



<p>(51) 国際特許分類7 C07K 14/705, C12N 15/12, 5/10, C12P 21/02, 21/08, C07K 16/28, G01N 33/68, 33/53 // (C12N 15/12, C12R 1:91) (C12N 5/10, C12R 1:91)</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/21999</p> <p>(43) 国際公開日 2000年4月20日(20.04.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/05578</p> <p>(22) 国際出願日 1999年10月8日(08.10.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/288565 1998年10月9日(09.10.98) JP 特願平10/347546 1998年12月7日(07.12.98) JP 特願平10/363537 1998年12月21日(21.12.98) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 中外分子医学研究所 (CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC.)[JP/JP] 〒300-4101 茨城県新治郡新治村永井153番地2 Ibaraki, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 前田正嗣(MAEDA, Masatsugu)[JP/JP] 中田靖彦(NAKATA, Yasuhiko)[JP/JP] 野村 仁(NOMURA, Hitoshi)[JP/JP] 〒300-4101 茨城県新治郡新治村永井153番地2 株式会社 中外分子医学研究所内 Ibaraki, (JP)</p>	<p>(74) 代理人 弁理士 清水初志, 外(SHIMIZU, Hatsushi et al.) 〒300-0847 茨城県土浦市卸町1-1-1 関鉄つくばビル6階 Ibaraki, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>	
<p>(54) Title: NOVEL G PROTEIN-COUPLED RECEPTORS</p> <p>(54) 発明の名称 新規G蛋白質結合型受容体</p> <p>(57) Abstract Partial cDNA sequences of target genes are obtained by performing RT-PCR with the use of an oligonucleotide primer designed based on a human genome sequence containing novel G protein-coupled receptor genes found out on a data base. Further, full-length cDNAs of these genes are successfully isolated by the 5'-RACE method and 3'-RACE method with the use of a human testis-origin cDNA library as a template. The proteins encoded by the thus isolated genes have the characteristics of the known olfactory receptor (OR) gene family. Moreover, the expression properties thereof suggest that these genes would have functions relating to immune response and hemopoiesis.</p>		

データベース上に見出された新規なG蛋白質結合型受容体遺伝子を含むヒトゲノム配列をに基づき設計したオリゴヌクレオチドプライマーを利用して、RT-PCRを行い、標的遺伝子の部分cDNA配列を得た。さらに、ヒト精巣由来のcDNAライブラリーを鋳型とした、5'-RACE法及び3'-RACE法を実施することで、これら遺伝子の完全長cDNAを単離することに成功した。単離した遺伝子がコードする蛋白質は、既知のOlfactory受容体(OR)遺伝子ファミリーの特徴を有していた。また、その発現特性から免疫応答や造血に関連した機能が示唆された。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AL	アルバニア	EE	エストニア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AU	オーストラリア	FR	フランス	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LS	レソト	SK	スロヴァキア
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BE	ベルギー	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MA	モロッコ	TD	チャード
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MC	モナコ	TG	トーゴ
BJ	ベナン	GN	ギニア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BR	ブラジル	GW	ギニア・ビサウ	MG	マダガスカル	TZ	タンザニア
BY	ベラルーシ	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TM	トルクメニスタン
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TR	トルコ
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TT	トリニダード・トバゴ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モリタニア	UA	ウクライナ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UG	ウガンダ
CI	コートジボアール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	US	米国
CM	カメルーン	IN	インド	NE	ニジェール	UZ	ウズベキスタン
CN	中国	IS	アイスランド	NL	オランダ	VN	ヴェトナム
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NO	ノールウェー	YU	ユーゴスラビア
CU	キューバ	JP	日本	NZ	ニュージーランド	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	KE	ケニア	PL	ポーランド	ZW	ジンバブエ
CZ	チェコ	KG	キルギスタン				
DE	ドイツ	VO	北マケドニア				

明細書

新規G蛋白質結合型受容体

技術分野

本発明は、新規なG蛋白質結合型受容体蛋白質およびその遺伝子、並びにそれらの製造および用途に関する。

背景技術

これまでに、Olfactory受容体(OR)遺伝子ファミリーは生体の嗅覚応答機構を司るOdorant受容体をコードしている多重遺伝子ファミリーとして知られている。同遺伝子の発見は、1991年にラットの嗅覚感作神経細胞での発現が観察された報告(Buck, L. et al. Cell 65, 175-187, 1991)が最初のもので、その後、イヌ(Permentier, M. et al. Nature 355, 453-455, 1992), マウス(Ressler, K.J. et al. Cell 73, 597-609, 1993), ヒト(Selbie, L.A. et al. Mol. Brain Res. 13, 159-163, 1992), ナマズ(Ngai, J. et al. Cell 72, 657-666, 1993), カエル(Freitag, J. et al. Neuron 15, 1383-1392, 1995)においても生物種を越え、相次いで相同遺伝子群が見出されている。同遺伝子群がコードする受容体蛋白質は、他のG蛋白質結合型受容体サブファミリーと同様に7回膜貫通型の構造的特徴を持ち、共通して第1細胞外領域に糖修飾を受ける[N-x-S / T] (x は任意のアミノ酸) モチーフが存在する。また、第2細胞外領域(ループ-1)と第3細胞外領域(ループ-2)は、互いの保存されたシステイン残基によりジスルフィド結合で架橋されている。さらに機能的にも重要であることが予測される共通モチーフは、第2細胞内領域の[M-A-Y-D-R-Y-L/V-A-I/V-C] 配列で、特にこの[D-R-Y] モチーフが、細胞内のG蛋白質との結合に不可欠であることが示唆されてい

る (Rosenthal, W. et al. J. Biol. Chem. 268, 13030-13033, 1993、Marchese, A. et al. Genomics 23, 609-618, 1994)。

一方、Odorant受容体群に対するリガンドに関しては、例えばodourリガンドや神経ペプチド様の存在が推測されてはいるが、現在のところ全く不明である (Buck, L. et al. Cell 65, 175-187, 1991、Ngai, J. et al. Cell 72, 657-666, 1993)。また、そのシグナル伝達についても、G 蛋白質との結合が指摘されている以外は、ほとんど知見はなく、今後の機能解析が望まれている。最近になって構造的親近性より、同遺伝子群の全体を大きく8種類のサブファミリーに分類することが提唱されてはいるが、それが必ずしも機能的分類との相関性を決定できるとは考え難い。また、ヒトにおいて同遺伝子群は、約1000コピー近く存在することが予測されているにもかかわらず、そのうち約70%は偽遺伝子であることが推定されている (Sylvie, R. et al. Nature Gen. 18, 243-250, 1998)。

発明の開示

本発明は、新規なG蛋白質結合型受容体蛋白質およびその遺伝子、それらの製造方法および該製造などに用いられる分子、並びにそれらの用途を提供する。

Blast 検索により、GenBank の 公的データベース内に新規な複数の7回膜貫通型G蛋白質結合型受容体遺伝子を含むヒトゲノム配列を見出した。このゲノム配列に基づき設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いた RT-PCR を、ヒト各臓器由来の mRNA を鋳型として実施することにより、これら標的遺伝子の部分cDNA配列を得ると同時に、各臓器におけるこれら遺伝子の発現分布、及び発現様態を評価した。その後さらに、RT-PCRの結果において高い遺伝子発現が認められたヒト精巣由来の cDNA ライブラリーを鋳型として用いた、5' -RACE 法及び3' -RACE 法を実施することで、これら遺伝子の完全

長cDNAの単離に成功した。最初に単離されたヒト染色体第14番に由来する3つの遺伝子をそれぞれGTAR14-1、GTAR14-3、およびGTAR14-5と、次いで単離されたヒト染色体第11番に由来する4つの遺伝子をそれぞれGTAR11-1、GTAR11-2、GTAR11-3、およびGTAR11-4と命名した。

これら遺伝子は新規7回膜貫通型G蛋白質結合型受容体をコードし、既知のOlfactory 受容体(OR)遺伝子ファミリーの特徴を満足させるものであった。これら遺伝子のヒト各臓器での発現分布を解析した結果、GTAR14-1は、胸腺、脾臓といったリンパ造血系、及び精巣と膵臓において特に強く検出された他、胎児胸腺において発現が認められた。GTAR14-3は、胸腺、及び精巣において特に強く検出された他、小腸、結腸などの消化管や、胎盤や前立腺などのホルモン分泌系においても遺伝子発現が認められ、幅広い発現組織分布を示した。GTAR14-5においては、胸腺、脾臓、末梢白血球といったリンパ造血系、及び精巣において特に強く検出された。さらに、胎児胸腺、胎児脾臓、胎児肺でも発現増強が認められた他、胎児脳と胎児腎臓においても弱い遺伝子発現が認められた。また、GTAR11-1は、胸腺、脾臓、末梢リンパ球といったリンパ造血系、小腸、結腸などの消化管、及び精巣と胎盤において特に強く検出された。GTAR11-2は、胸腺、末梢リンパ球といったリンパ造血系、及び精巣と胎盤において特に強く検出された。GTAR11-3は、胸腺、脾臓といったリンパ造血系及び生殖器系において特に強く検出された他、小腸、結腸などの消化管、筋肉、神経系においても幅広く検出された。GTAR11-4は、胸腺、脾臓といったリンパ造血系、及び生殖器系において特に強く検出された他、小腸、結腸などの消化管、及び内分泌系などにおいても幅広い発現分布が認められた。

このような発現特性等から、これら遺伝子がコードする蛋白質は、リンパ造血系や内分泌系で重要な機能を担うことが予測され、新規造血性ペプチド因子や新規ホルモン様ペプチド因子の検索に利用しうると考えられた。

本発明は、新規なG蛋白質結合型受容体蛋白質およびその遺伝子、並びにそれらの製造および用途に関し、より具体的には、

(1) 下記(a)から(c)のいずれかに記載のG蛋白質結合型受容体蛋白質、

(a) 配列番号：4、5、6、28、29、30、31のいずれかに記載のアミノ酸配列からなる蛋白質。

(b) 配列番号：4、5、6、28、29、30、31のいずれかに記載のアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸の欠失、付加、挿入及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列からなる蛋白質。

(c) 配列番号：1、2、3、24、25、26、27のいずれかに記載の塩基配列からなるDNAとハイブリダイズするDNAがコードする蛋白質。

(2) (1)に記載の蛋白質と他のペプチド又はポリペプチドとからなる融合蛋白質、

(3) (1)に記載の蛋白質の部分ペプチド、

(4) (1)～(3)のいずれか1項に記載の蛋白質またはペプチドをコードするDNA、

(5) (4)に記載のDNAが挿入されたベクター、

(6) (4)に記載のDNAを発現可能に保持する形質転換体、

(7) (6)に記載の形質転換体を培養し、発現させた蛋白質またはペプチドを回収する工程を含む、(1)～(3)のいずれか1項に記載の蛋白質またはペプチドの製造方法、

(8) (1)に記載の蛋白質に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) (1)～(3)のいずれか1項に記載の蛋白質またはペプチドに被験試料を接触させる工程、および

(b) (1) ~ (3) のいずれか 1 項に記載の蛋白質またはペプチドに結合する活性を有する化合物を選択する工程、を含む方法、

(9) (1) に記載の蛋白質に結合するリガンドおよび／またはアゴニストをスクリーニングする方法であって、

(a) (1) ~ (3) のいずれか 1 項に記載の蛋白質またはペプチドを表面に発現させた細胞に被験試料を接触させる工程、

(b) 該細胞内の生化学的変化を測定する工程、および

(c) 該細胞内の生化学的変化を誘導する化合物を選択する工程、を含む方法、

(10) (1) に記載の蛋白質に結合する抗体、

(11) (10) に記載の抗体と、(1) ~ (3) のいずれか 1 項に記載の蛋白質またはペプチドが含まれると予想される試料とを接触せしめ、該抗体と該蛋白質またはペプチドとの免疫複合体の生成を検出又は測定することを含んでなる、該蛋白質またはペプチドの検出又は測定方法、

(12) 配列番号：1、2、3、24、25、26、27 のいずれかに記載の塩基配列からなる DNA またはその相補鎖とハイブリダイズし、少なくとも 15 塩基の鎖長を有する DNA、を提供するものである。

本発明者らにより単離された GTAR14-1 cDNA、GTAR14-3 cDNA、GTAR14-5 cDNA の塩基配列をそれぞれ配列番号：1、2、3 に、またこれら cDNA によりコードされる蛋白質のアミノ酸配列をそれぞれ配列番号：4、5、6 に示す。また、本発明者らにより単離された GTAR11-1 cDNA、GTAR11-2 cDNA、GTAR11-3 cDNA、GTAR11-4 cDNA の塩基配列をそれぞれ配列番号：24、25、26、27 に、また、これら cDNA によりコードされる蛋白質のアミノ酸配列をそれぞれ配列番号：28、29、30、31 に示す。

OR 遺伝子ファミリーに属する受容体蛋白質は、他の G 蛋白質結合型受容体蛋白質と同様に、7 回膜貫通型の構造的特徴を持ち、共通して第 1 細胞外領域

に糖修飾を受ける[N-x-S / T] (x は任意のアミノ酸) モチーフを有する。また、第2細胞外領域(ループ-1)と第3細胞外領域(ループ-2)には、ジスルフィド結合による架橋のための保存されたシステイン残基、さらにG蛋白質との結合に不可欠であることが示唆されている、第2細胞内領域の[M-A-Y-D-R-Y-L/V-A-I/V-C] 配列(特に該配列内の[D-R-Y] モチーフ)を有している(Rosenthal, W. et al. J. Biol. Chem. 268, 13030-13033, 1993、Marchese, A. et al. Genomics 23, 609-618, 1994)。

本発明者らにより単離された上記7つの遺伝子がコードする蛋白質(以下、「GTAR蛋白質」と称する)は、細胞膜蛋白質であり、その配列中に7箇所の疎水性膜貫通領域を保有する7回膜貫通型受容体である。

また、GTAR蛋白質は、既知のOdorant受容体同様に、上記のG蛋白質結合型受容体蛋白質に特徴的なモチーフを有する。即ち、第1細胞外領域に糖修飾を受ける[N-x-S/T]モチーフ(x は任意のアミノ酸)として、GTAR14-1蛋白質は[N-Q-T]配列を、GTAR14-3蛋白質は[N-S-T]配列を、GTAR14-5蛋白質は[N-T-S]配列を有していた。また、GTAR11-1蛋白質は [N-Y-S]配列を、GTAR11-2蛋白質、GTAR11-3蛋白質、およびGTAR11-4蛋白質は [N-S-T]配列を有していた。

また共通して、第2細胞外領域(ループ-1)と第3細胞外領域(ループ-2)の保存されたシステイン残基を有していた。さらに、G蛋白質との結合に不可欠であることが示唆されている第2細胞内領域の[M-A-Y-D-R-Y-L/V-A-I/V-C] 配列として、GTAR14-1蛋白質は[V-A-Y-D-R-Y-V-A-I-C]配列を、それ以外の蛋白質は[M-A-Y-D-R-Y-L-A-I-C]配列を有していた。

これらの特徴から、GTAR蛋白質は、他のG蛋白質結合型受容体蛋白質と同様に、細胞外からのリガンド刺激に应答して、細胞内のG蛋白質と結合することによりその機能を発現していると考えられる。

また、RT-PCRによる発現解析により、GTAR遺伝子は、特に胸腺と精巣にお

いて強い発現が観察された（実施例3、実施例7、図7から9、図20から23）。この事実、これらGTAR蛋白質が特定集団のリンパ球細胞群における分化調節や、増殖及び活性化調節を担っている可能性を示唆するものである。これは即ち、GTAR蛋白質が、リガンド刺激に応答し、G蛋白質との相互作用を介することによって、リンパ球に特徴的な活性の調節を司る、中枢分子として機能し得ることを強く示唆している。また、常に細胞周期が回転しており、いわゆる周期ターンオーバーの速い精巣の特質を考えると、これら蛋白質が細胞周期や分裂を機能制御し得る可能性も予測される。

一方、GTAR14-1遺伝子の発現は、造血細胞を含むと予測される、脾臓でも認められた。GTAR14-5遺伝子の発現も、造血細胞を含むと予測される、脾臓や末梢白血球において認められた。また、GTAR11遺伝子の発現は、造血細胞を含むと予測される、末梢白血球において認められた。さらに、GTAR11-1遺伝子、GTAR11-3遺伝子、およびGTAR11-4遺伝子においては、造血細胞を含むと予測される、脾臓でも発現が認められた。このことは、構造的に既知Odorant受容体と類似性を示すGTAR14-1蛋白質およびGTAR14-5蛋白質やGTAR11蛋白質が、新規造血調節因子受容体として機能し得る可能性を示唆するものである。

GTAR14-3遺伝子に関しては、上記の胸腺、精巣以外に、小腸、結腸などの消化管や、胎盤、前立腺といった内分泌系でも遺伝子発現が認められた。さらに、ヒト胎児臓器由来のmRNA においては、胸腺、脳、心臓、平滑筋、及び腎臓で強いPCR 産物の増幅が認められ、また、胎児肝臓と胎児肺においても弱い遺伝子発現が認められ、幅広い発現組織分布を示した。このことは、GTAR14-3蛋白質が新規造血因子受容体として機能し得る可能性を示唆するのみならず、新規ホルモン様ペプチド分子受容体として、多岐にわたる生理機能を制御し得る可能性を強く示唆している。

免疫担当細胞において中枢的機能責任を担いうるGTAR蛋白質には、以下の

疾患領域における臨床応用が考えられる。

まず、第一にGTAR蛋白質に機能結合しうる、生体由来のリガンドやアゴニスト、あるいはGTAR蛋白質の機能を活性化しうる特異的抗体の生体投与により、GTAR蛋白質の活性亢進を促すことによって、生体の細胞性免疫を増強しうると予測される。即ち、上記のような機能結合物質は免疫担当細胞、中でも特にT細胞群の増殖促進剤、分化促進剤、あるいは免疫細胞機能活性化剤としての臨床応用が可能である。これは即ち、腫瘍免疫や感染免疫といった生体免疫応答の促進を意味するものであり、具体的には、ある特定種の癌組織に対する細胞障害性免疫を高めることが可能であり、また、感染症に対する生体の免疫抵抗性を高めることで、HCVやHIVといった各種ウィルス感染に対する抵抗力の増強を誘導しうる。

第二にGTAR蛋白質に機能結合しうる、アンタゴニストやその他の阻害剤、あるいはGTAR蛋白質の機能を阻害しうる特異的抗体の生体投与により、GTAR蛋白質の活性阻害を促すことによって、生体の細胞性免疫を抑制しうると予測される。即ち、このような阻害物質は免疫担当細胞、中でも特にT細胞群の増殖抑制剤、分化促進剤、あるいは免疫細胞機能活性化剤としての臨床応用が可能である。これは即ち、自己組織傷害性が起因する自己免疫疾患発生の抑制や、移植免疫の領域において最大の問題となる、生体免疫による組織拒絶応答の抑制を意味するものであり、具体的には、糖尿病や肝傷害、コラーゲン関節炎、GVHD、EAEといった免疫応答の異常亢進により誘導された疾患領域に対して、極めて有効であると考えられる。あるいは、金属や花粉などに対する種々の抗原特異的アレルギーに対しても、上記阻害剤による免疫抑制による解決が有効であると考えられる。

本発明はまた、上記GTAR蛋白質と機能的に同等な蛋白質も包含する。本発明において「機能的に同等」とは、蛋白質が、GTAR蛋白質と同等の生物学的活性を有することを指す。生物学的活性としては、例えば、G蛋白質結合型受

容体蛋白質活性、即ち、リガンド刺激に応答して細胞内のG蛋白質と相互作用することにより、細胞外から細胞内へのシグナル伝達を行う活性である。

このような蛋白質を得るための方法としては、蛋白質のアミノ酸配列に変異を導入する方法が用いられている。例えば、合成オリゴヌクレオチドプライマーを利用した部位特異的変異誘発法により、蛋白質中のアミノ酸配列に所望の変異を導入することができる (Kramer, W. and Fritz, H. J. *Methods in Enzymol.* (1987) 154, 350-367)。また、PCRによる部位特異的変異誘発システム (GIBCO-BRL製) を使用して、蛋白質中のアミノ酸配列に変異を導入することもできる。これらの方法により、GTAR14蛋白質 (配列番号: 4から6、28から31) において、その生物学的活性に影響を与えないよう、1若しくは複数個のアミノ酸の欠失、付加及び/又は他のアミノ酸による置換により修飾された、GTAR蛋白質と機能的に同等な蛋白質を得ることができる。

GTAR蛋白質と機能的に同等な蛋白質としては、具体的には、配列番号: 4から6、28から31のいずれかに示されるアミノ酸配列中の1又は2個以上、好ましくは、2個以上30個以下、より好ましくは2個以上10個以下のアミノ酸が欠失したもの、配列番号: 4から6、28から31のいずれかに示されるアミノ酸配列に1又は2個以上、好ましくは、2個以上30個以下、より好ましくは2個以上10個以下のアミノ酸が付加したもの、配列番号: 4から6、28から31のいずれかに示されるアミノ酸配列中の1又は2個以上、好ましくは、2個以上30個以下、より好ましくは2個以上10個以下のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたものが挙げられる。

あるアミノ酸配列に対する1又は複数個のアミノ酸残基の欠失、付加及び/又は他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列を有する蛋白質がその生物学的活性を維持することはすでに知られている (Mark, D. F. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1984) 81, 5662-5666、Zoller, M. J. & Smith, M. *Nucleic Acids Research* (1982) 10, 6487-6500、Wang,

A. et al., Science 224, 1431-1433 、 Dalbadie-McFarland, G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1982) 79, 6409-6413)。

例えば、GTAR蛋白質に1又は複数個のアミノ酸残基が付加された蛋白質として、GTAR蛋白質を含む融合蛋白質が挙げられる。融合蛋白質は、GTAR蛋白質と他のペプチド又は蛋白質とが融合したものであり、本発明に包含される。融合蛋白質を作製する方法は、GTAR蛋白質をコードするDNAと他のペプチド又は蛋白質をコードするDNAをフレームが一致するように連結してこれを発現ベクターに導入し、宿主で発現させればよく、すでに公知の手法を用いることができる。本発明の蛋白質との融合に付される他のペプチド又は蛋白質としては、特に限定されない。

例えば、ペプチドとしては、FLAG (Hopp, T. P. et al., BioTechnology (1988) 6, 1204-1210)、6 個のHis (ヒスチジン) 残基からなる6 ×His、10 ×His、インフルエンザ凝集素 (HA)、ヒトc-myc の断片、VSV-GPの断片、p18HIVの断片、T7-tag、HSV-tag、E-tag、SV40T 抗原の断片、lck tag、 α -tubulinの断片、B-tag、Protein C の断片等、すでに公知であるペプチドが使用される。また蛋白質としては、例えばGST (グルタチオン・S・トランスフェラーゼ)、HA (インフルエンザ凝集素)、イムノグロブリン定常領域、 β -ガラクトシダーゼ、MBP (マルトース結合蛋白質) 等が挙げられる。市販されているこれらをコードするDNAを融合させたものを用いることができる。

本発明の蛋白質はまた、配列番号：1から3、24から27のいずれかに示される塩基配列からなるDNAとストリンジントな条件下でハイブリダイズするDNAによりコードされており、且つGTAR蛋白質と機能的に同等な蛋白質を含む。ストリンジントな条件としては、当業者であれば適宜選択することができるが、例えば低ストリンジントな条件が挙げられる。低ストリンジントの条件とは、例えば42°C、2×SSC、0.1% SDSが挙げられ、好ましくは5

0°C、2×SSC、0.1%SDSである。またより好ましくは、高ストリンジェントな条件が挙げられる。高ストリンジェントな条件とは、例えば65°C、2×SSC及び0.1%SDSが挙げられる。これらの条件において、温度を上げる程に高い相同性を有するDNAを得ることができる。

また、本発明にはGTAR蛋白質と機能的に同等であり、且つ該蛋白質のアミノ酸配列（配列番号：4から6、28から31）と相同性を有する蛋白質も含まれる。相同性を有する蛋白質とは、配列番号：4から6、28から31のいずれかに示されるアミノ酸配列と、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%、さらに好ましくは少なくとも95%以上、アミノ酸配列上の相同性を有する蛋白質を意味する。蛋白質の相同性を決定するには、文献（Wilbur, W. J. and Lipman, D. J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1983) 80, 726-730）に記載のアルゴリズムにしたがえばよい。

本発明の蛋白質は、後述するそれを産生する細胞や宿主あるいは精製方法により、アミノ酸配列、分子量、等電点又は糖鎖の有無や形態が異り得る。しかしながら、得られた蛋白質がG蛋白質結合型受容体蛋白質活性を有している限り、本発明に含まれる。

本発明の蛋白質を製造するには、得られたDNAを発現制御領域、例えばエンハンサー、プロモーターの制御のもとで発現可能なように発現ベクターに組み込む。次に、この発現ベクターにより宿主細胞を形質転換し、蛋白質を発現させる。

具体的には次のようにすればよい。哺乳類細胞を使用する場合、常用される有用なプロモーター／エンハンサー、本発明の蛋白質をコードするDNA、その3'側下流にポリAシグナルを機能的に結合させたDNAあるいはそれを含むベクターを構築する。例えばプロモーター／エンハンサーとしては、ヒトサイトメガロウィルス前期プロモーター／エンハンサー（human cytomegalovirus immediate early promoter/enhancer）を挙げることができる。

また、その他に蛋白質発現に使用できるプロモーター／エンハンサーとして、レトロウィルス、ポリオーマウィルス、アデノウィルス、シミアンウィルス40 (SV 40) 等のウィルスプロモーター／エンハンサーやヒトエロンゲーションファクター-1 α (HEF1 α) の哺乳類細胞由来のプロモーター／エンハンサーを用いればよい。

例えば、SV 40 プロモーター／エンハンサーを使用する場合、Mulliganらの方法 (Nature (1979) 277, 108)、また、HEF1 α プロモーター／エンハンサーを使用する場合、Mizushima らの方法 (Nucleic Acids Res. (1990) 18, 5322) に従えば容易に実施することができる。

大腸菌を使用する場合、常用される有用なプロモーター、ポリペプチド分泌のためのシグナル配列、発現させる遺伝子を機能的に結合させて発現させることができる。例えばプロモーターとしては、lacZプロモーター、araBプロモーターを挙げることができる。lacZプロモーターを使用する場合、Wardらの方法 (Nature (1998) 341, 544-546 ; FASEB J. (1992) 6, 2422-2427)、araBプロモーターを使用する場合、Betterらの方法 (Science (1988) 240, 1041-1043) に従えばよい。

蛋白質分泌のためのシグナル配列としては、大腸菌のペリプラズムに産生させる場合、pelBシグナル配列 (Lei, S. P. et al J. Bacteriol. (1987) 169, 4379) を使用すればよい。

複製開始点としては、SV 40、ポリオーマウィルス、アデノウィルス、ウシバビローマウィルス (BPV) 等の由来のものを用いることができる。さらに、宿主細胞系で遺伝子コピー数増幅のため、発現ベクターは選択マーカーとして、アミノグリコシドトランスフェラーゼ (APH) 遺伝子、チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子、大腸菌キサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Ecogpt) 遺伝子、ジヒドロ葉酸還元酵素 (dhfr) 遺伝子等を含むことができる。

本発明の蛋白質を製造するための発現ベクターは、本発明に好適に使用される発現ベクターであればいかなる発現ベクターであってよい。本発明の発現ベクターとしては、哺乳動物由来の発現ベクター[例えばpEF、pCDM8]、昆虫細胞由来の発現ベクター[例えばpBacPAK8]、植物由来の発現ベクター[例えばpMH1、pMH2]、動物ウイルス由来の発現ベクター[例えばpHSV、pMV、pAdexLcw]、レトロウイルス由来の発現ベクター[例えばpZlpneo]、酵母由来の発現ベクター[例えばpNV11、SP-Q01]、枯草菌由来の発現ベクター[例えばpPL608、pKTH50]、大腸菌由来の発現ベクター[例えばpQE、pGEAPP、pGEMEAPP、pMALp2]が挙げられる。

本発明のベクターは、in vivo、in vitroで本発明の蛋白質を製造するのみならず、哺乳動物、例えばヒトの遺伝子治療に用いることもできる。

上述のように構築された本発明の発現ベクターの宿主への導入方法としては、公知の方法、例えばリン酸カルシウム法 (Virology (1973) 52, 456-467) やエレクトロポレーション法 (EMBO J. (1982) 1, 841-845) 等が用いられる。

本発明において、蛋白質の製造のために、任意の産生系を使用することができる。蛋白質製造のための産生系は、in vitroおよびin vivoの産生系がある。in vitroの産生系としては、真核細胞を使用する産生系や原核細胞を使用する産生系が挙げられる。

真核細胞を使用する場合、動物細胞、植物細胞、真菌細胞を用いる産生系がある。動物細胞としては、哺乳類細胞[例えばCHO (J. Exp. Med. (1995) 108, 945)、COS、ミエローマ、BHK (baby hamster kidney)、HeLa、Ver o]、両生類細胞[例えばアフリカツメガエル卵母細胞 (Valle, et al., Nature (1981) 291, 358-340)]、あるいは昆虫細胞[例えばsf9、sf21、Tn5]が知られている。CHO細胞としては、特にDHFR遺伝子を欠損したCHO細胞であるdhfr-CHO (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980) 77, 4216-4220) やCH

O K-1 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1968) 60, 1275) を好適に使用することができる。

植物細胞としては、ニコチアナ・タバカム (*Nicotiana tabacum*) 由来の細胞が知られており、これをカルス培養すればよい。真菌細胞としては、酵母[例えばサッカロミセス (*Saccharomyces*) 属、例えばサッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)]、糸状菌[例えばアスペルギルス属 (*Aspergillus*) 属、例えばアスペルギルス・ニガー (*Aspergillus niger*)]が知られている。

原核細胞を使用する場合、細菌細胞を用いる産生系がある。細菌細胞としては、大腸菌 (*E. coli*)、枯草菌が知られている。

これらの細胞を目的とするDNAにより形質転換し、形質転換された細胞を *in vitro* で培養することにより蛋白質が得られる。培養は、公知の方法に従い行うことができる。例えば、培養液として、DMEM、MEM、RPMI1640、IMDMを使用することができる。その際、牛胎児血清 (FCS) 等の血清補液を併用することもできるし、無血清培養してもよい。培養時のpHは約6~8であるのが好ましい。培養は通常約30~40°Cで約15~200時間行い、必要に応じて培地の交換、通気、攪拌を加える。

一方、*in vivo* の産生系としては、動物を使用する産生系や植物を使用する産生系が挙げられる。これらの動物又は植物に目的とするDNAを導入し、動物又は植物の体内で蛋白質を産生させ、回収する。本発明における「宿主」とは、これらの動物、植物を包含する。

動物を使用する場合、哺乳類動物、昆虫を用いる産生系がある。哺乳類動物としては、ヤギ、ブタ、ヒツジ、マウス、ウシを用いることができる (Vicki Glaser, SPECTRUM Biotechnology Applications, 1993)。また、哺乳類動物を用いる場合、トランスジェニック動物を用いることができる。

例えば、目的とするDNAをヤギ β カゼインのような乳汁中に固有に産生され

る蛋白質をコードする遺伝子の途中に挿入して融合遺伝子として調製する。このDNAが挿入された融合遺伝子を含むDNA断片をヤギの胚へ注入し、この胚を雌のヤギへ導入する。胚を受容したヤギから生まれるトランスジェニックヤギ又はその子孫が産生する乳汁から蛋白質を得る。トランスジェニックヤギから産生される蛋白質を含む乳汁量を増加させるために、適宜ホルモンをトランスジェニックヤギに使用してもよい。(Ebert, K.M. et al., Bio/Technology (1994) 12, 699-702)。

また、昆虫としては、例えばカイコを用いることができる。カイコを用いる場合、目的とするDNAを挿入したバキュロウィルスをカイコに感染させ、このカイコの体液より所望の蛋白質を得る (Susumu, M. et al., Nature (1985) 315, 592-594)。

さらに、植物を使用する場合、例えばタバコを用いることができる。タバコを用いる場合、目的とするDNAを植物発現用ベクター、例えばpMON 530に挿入し、このベクターをアグロバクテリウム・ツメファシエンス (*Agrobacterium tumefaciens*) のようなバクテリアに導入する。このバクテリアをタバコ、例えばニコチアナ・タバカム (*Nicotiana tabacum*) に感染させ、本タバコの葉より所望のポリペプチドを得る (Julian, K.-C. Ma et al., Eur. J. Immunol. (1994) 24, 131-138)。

これにより得られた本発明の蛋白質は、細胞内外、宿主から単離し実質的に純粋で均一な蛋白質として精製することができる。蛋白質の分離、精製は、通常の蛋白質の精製で使用されている分離、精製方法を使用すればよく、何ら限定されるものではない。例えば、クロマトグラフィーカラム、フィルター、限外濾過、塩析、溶媒沈殿、溶媒抽出、蒸留、免疫沈降、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、等電点電気泳動法、透析、再結晶等を適宜選択、組み合わせれば蛋白質を分離、精製することができる。

クロマトグラフィーとしては、例えばアフィニティークロマトグラフィー

、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、ゲル濾過、逆相クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー等が挙げられる (Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed Daniel R. Marshak et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996)。これらのクロマトグラフィーは、液相クロマトグラフィー、例えばHPLC、FPLC等の液相クロマトグラフィーを用いて行うことができる。本発明は、これらの精製方法を用い、高度に精製された蛋白質も包含する。

なお、蛋白質を精製前又は精製後に適当な蛋白質修飾酵素を作用させることにより、任意に修飾を加えたり部分的にペプチドを除去することもできる。蛋白質修飾酵素としては、トリプシン、キモトリプシン、リシルエンドペプチダーゼ、プロテインキナーゼ、グルコシダーゼ、プロテインキナーゼ、グルコシダーゼが用いられる。

本発明はまた、GTAR蛋白質（配列番号：4から6、28から31）の部分ペプチドを含む。部分ペプチドとしては、例えば、GTAR遺伝子がコードする部分ペプチド配列のうち、生体内に存在するリガンドとの結合部位に相当するペプチドが挙げられる。このような部分ペプチドは、生体投与することで、本来のリガンドと拮抗的に結合し、GTAR蛋白質とリガンドとの結合を競合阻害することが可能である。また、同様にG蛋白質との結合部位に相当する部分ペプチドを用いれば、GTAR蛋白質と細胞内G蛋白質との結合を拮抗的に競合阻害することが可能である。これら部分ペプチドは、GTAR蛋白質を介したシグナル伝達の阻害剤として有用である。

本発明の蛋白質の部分ペプチドは、遺伝子工学的手法、公知のペプチド合成法、あるいは本発明の蛋白質を適切なペプチダーゼで切断することによって製造することができる。ペプチド合成法としては、たとえば固相合成法、液相合成法のいずれによっても良い。

また、本発明は、上記本発明の蛋白質をコードするDNAに関する。本発明の蛋白質をコードするcDNAは、例えば、本明細書に記載のプロープを用いヒトcDNAライブラリーをスクリーニングして得ることができる。

得られたcDNA又はcDNA断片をプロープとして、さらにcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより異なる細胞、組織、臓器又は種からcDNAを得ることができる。cDNAライブラリーは、例えばSambrook, J. et al., Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)に記載の方法により調製してもよいし、市販のDNAライブラリーを用いてもよい。

また、得られたcDNAの塩基記列を決定することにより、それがコードする翻訳領域を決定でき、本発明の蛋白質のアミノ酸配列を得ることができる。また、得られたcDNAをプロープとしてジェノミックDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、ジェノミックDNAを単離することができる。

具体的には、次のようにすればよい。まず、本発明の蛋白質を発現する細胞、組織、臓器から、mRNAを単離する。mRNAの単離は、公知の方法、例えば、グアニジン超遠心法(Chirgwin, J. M. et al., Biochemistry (1979) 18, 5294-5299)、AGPC法(Chomczynski, P. and Sacchi, N., Anal. Biochem. (1987) 162, 156-159)等により全RNAを調製し、mRNA Purification Kit (Pharmacia)等を使用して全RNAからmRNAを精製する。また、QuickPrep mRNA Purification Kit (Pharmacia)を用いることによりmRNAを直接調製することもできる。

得られたmRNAから逆転写酵素を用いてcDNAを合成する。cDNAの合成は、AMV Reverse Transcriptase First-strand cDNA Synthesis Kit (生化学工業)等を用いて行うこともできる。また、本明細書に記載されたプロープを用いて、5'-Ampli FINDER RACE Kit (Clontech製)およびポリメラーゼ連鎖反応(polymerase chain reaction; PCR)を用いた5'-RACE法(Frohman, M. A. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85, 8998-9002; Be

lyavsky, A. et al., Nucleic Acids Res. (1989) 17, 2919-2932) にしたが、cDNAの合成および増幅を行うことができる。

得られたPCR産物から目的とするDNA断片を調製し、ベクターDNAと連結する。さらに、これより組換えベクターを作製し、大腸菌等に導入してコロニーを選択して所望の組換えベクターを調製する。目的とするDNAの塩基配列を公知の方法、例えば、ジデオキシヌクレオチドチェインターミネーション法により確認すればよい。

また、本発明のDNAは、発現に使用する宿主のコドン使用頻度を考慮して、より発現効率の高い配列を設計することができる (Grantham, R. et al., Nucleic Acids Research (1981) 9, p43-p74)。また、本発明のDNAを市販のキットや公知の方法によって改変することができる。例えば、制限酵素による消化、合成オリゴヌクレオチドや適当なDNAフラグメントの挿入、リンカーの付加、開始コドン (ATG) 及び／又は終始コドン (ATT、TGA 又はTAG) の挿入等が挙げられる。

本発明のDNAは、具体的には配列番号：1の塩基配列において9位の塩基Aから947位の塩基CからなるDNA、配列番号：2の塩基配列において13位のAから951位の塩基TからなるDNA、および配列番号：3の塩基配列において410位の塩基Aから1339位の塩基TからなるDNA、配列番号：24の塩基配列において17位の塩基Aから892位の塩基GからなるDNA、配列番号：25の塩基配列において18位の塩基Aから956位の塩基CからなるDNA、配列番号：26の塩基配列において18位の塩基Aから956位の塩基CからなるDNA、および配列番号：27の塩基配列において19位の塩基Aから945位の塩基CからなるDNAを包含する。

本発明のDNAはまた、配列番号：1から3、24から27のいずれかに示す塩基配列からなるDNAとストリンジントな条件下でハイブリダイズするDNAであり、且つ上記本発明の蛋白質と機能的に同等な蛋白質をコードするDNAを含む。

ストリンジントな条件としては、当業者であれば適宜選択することがで

きるが、例えば低ストリンジェントな条件が挙げられる。低ストリンジェントの条件とは、例えば42°C、2×SSC、0.1%SDSが挙げられ、好ましくは50°C、2×SSC、0.1%SDSである。またより好ましくは、高ストリンジェントな条件が挙げられる。高ストリンジェントな条件とは、例えば65°C、2×SSC及び0.1%SDSが挙げられる。これらの条件において、温度を上げる程に高い相同性を有するDNAを得ることができる。上記のハイブリダイズするDNAは好ましくは、cDNAまたは染色体DNAである。

本発明の蛋白質は、医薬品などとしての利用が期待される、これに結合する化合物のスクリーニングに有用である。すなわち、本発明の蛋白質と、該蛋白質に結合する化合物を含むと予想される被験試料とを接触せしめ、そして本発明の蛋白質に結合する活性を有する化合物を選択する、ことからなる本発明の蛋白質に結合する化合物をスクリーニングする方法において使用される。

スクリーニングに用いられる本発明の蛋白質は組換え型、天然型又は部分ペプチドのいずれであってもよい。また、精製した蛋白質やその部分ペプチドであっても、細胞表面に発現させた形態、膜画分としての形態であってもよい。

また、本発明の蛋白質に結合する活性を有する化合物としては、天然由来であっても、人工的に合成された化合物であってもよい。天然由来の化合物としては、例えば、本発明の蛋白質に結合するリガンドが挙げられる。本発明において「リガンド」とは、本発明の蛋白質に結合することにより、本発明の蛋白質を発現する細胞に対して特定の生理活性作用を発現させる、天然由来の化合物を指す。該生理活性作用には、後述する、cAMPの産生、細胞内Ca濃度の変化、プロテインキナーゼCの活性化などの生化学的变化が含まれる。

。

本発明の蛋白質と結合する蛋白質のスクリーニング方法は、例えば、ウェ

ストウエスタンプロッティング法 (Skolnik, E. Y. et al., Cell (1991) 65, 83-90) により行うことができる。本発明の蛋白質と結合する蛋白質を発現していると予想される細胞、組織、臓器よりcDNAを単離し、これをファージベクター、例えばλgt11、ZAPII等へ導入してcDNAライブラリーを作製し、これを培地を引いたプレート上で発現させ、フィルターに発現させた蛋白質を固定し、標識して精製した本発明の蛋白質と上記フィルターとを反応させ、本発明の蛋白質と結合した蛋白質を発現するブランクを標識により検出すればよい。本発明の蛋白質を標識する方法としては、ビオチンとアビジンの結合性を利用する方法、本発明の蛋白質又は本発明の蛋白質に融合したペプチド又はポリペプチドに特異的に結合する抗体を利用する方法、ラジオアイソトープを利用する方法又は蛍光を利用する方法等が挙げられる。

また、本発明のスクリーニング方法の他の態様としては、細胞を用いたtwo-ハイブリッドシステム (Fields, S., and Sternglanz, R., Trends. Genet. (1994) 10, 286-292) を用いて行う方法が挙げられる。

本発明の蛋白質とヘテロダイマーからなる転写調節因子の一方のサブユニットとの融合蛋白質をコードするDNAを含む発現ベクター及び被験試料として所望のcDNAとヘテロダイマーからなる転写調節因子のもう一方のサブユニットをコードするDNAを連結してなるDNAを含む発現ベクターを細胞に導入して発現させ、本発明の蛋白質にcDNAがコードする蛋白質が結合して該転写調節因子がヘテロダイマーを形成した場合、あらかじめ細胞内に構築したレポーター遺伝子が発現するようなtwo-ハイブリッドシステムを用いることができる。本発明の蛋白質に結合する蛋白質が存在した場合、レポーター遺伝子の発現量を検出又は測定することにより蛋白質を選択することができる。

具体的には、次のようにすればよい。すなわち、本発明の蛋白質をコードするDNAとLexAのDNA結合ドメインをコードする遺伝子とをフレームが一致するように連結し、発現ベクターを作製する。次に、所望のcDNAとGAL4転写活

性化ドメインをコードする遺伝子とを連結せしめることにより発現ベクターを作製する。

LexA結合モチーフが存在するプロモーターにより転写が調節されるHIS3遺伝子を組み込んだ細胞を上記のtwo-ハイブリッドシステム発現プラスミドを用いて形質転換した後、ヒスチジン不含合成培地上でインキュベートすると蛋白質の相互作用が認められたときのみ細胞の生育が観察される。このように、形質転換体の生育程度によりレポーター遺伝子の発現量の増加を調べることができる。

レポーター遺伝子としては、HIS3遺伝子の他、ルシフェラーゼ遺伝子、PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor type1) 遺伝子等を用いることができる。

two-ハイブリッドシステムは、通常用いられている方法により構築してもよいし、市販のキットを用いてもよい。市販のtwo-ハイブリッドシステムのキットとしては、MATCHMARKER Two-Hybrid System、Mammalian MATCHMARKER Two-Hybrid Assay Kit (いずれもCLONTECH製)、HybriZAP Two-Hybrid Vector System (Stratagene製) が挙げられる。

本発明におけるスクリーニング方法の他の態様は、アフィニティクロマトグラフィーを用いて行うことができる。すなわち、本発明の蛋白質をアフィニティーカラムの担体に固定し、ここに本発明の蛋白質と結合する蛋白質を発現していることが予想される被験試料を適用する。この場合の被験試料としては、細胞の培養上清、細胞抽出物、細胞溶解物等が挙げられる。被験試料を適用した後、カラムを洗浄し、本発明の蛋白質に結合した蛋白質を得ることができる。

また、本発明の蛋白質を適当な宿主細胞表面に安定的に発現せしめた後、リガンドを含むと考えられる試料を該細胞に接触せしめることにより、該細胞に誘起される生化学的変化を検出することによって、本発明の蛋白質に結

合する化合物のスクリーニングを行うことも可能である。宿主細胞としては、種々の哺乳動物細胞を利用することが可能であるが、好ましくは本発明の蛋白質が本来発現している細胞、例えば、免疫細胞である。指標となる生化学的変化としては、本発明の蛋白質に結合するG蛋白質の種類により異なるが、例えば、cAMPの産生、細胞内Ca濃度の変化、プロテインキナーゼCの活性化などが挙げられる。また、より一般的な指標として、マイクロフィジオメータ（例えば、モレキュラーデバイス社製「サイトセンサー^R」）を利用した微小細胞外pH変化を用いることも可能である。

本発明のスクリーニング方法で使用される被験試料としては、例えばペプチド、精製若しくは粗精製蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、微生物発酵生産物、細胞抽出液、動物組織抽出液、海洋生物抽出液、植物抽出液が挙げられる。

上記のスクリーニング方法によって単離される化合物は、本発明の受容体蛋白質の機能異常などに起因する疾患において、本発明の蛋白質の活性を促進又は阻害するための薬剤の候補となる。本発明のスクリーニング方法を用いて得られる、本発明の蛋白質に結合する活性を有する化合物の構造の一部を、付加、欠失及び／又は置換により変換される物質も、本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物に含まれる。

また、上述した生化学的変化を指標に、あるいは本発明の受容体蛋白質とリガンドとの結合を阻害する活性を指標に、該受容体蛋白質に対するアゴニストやアンタゴニストをスクリーニングすることも可能である。本発明において「アゴニスト」とは、本発明の蛋白質に結合することにより、細胞に、リガンドと同様の生理活性作用を発現させる、非天然由来の化合物を指す。また、本発明において「アンタゴニスト」とは、本発明の蛋白質に対するリガンドやアゴニストの作用を阻害する化合物を指し、天然由来および非天然由来の化合物を含む。

細胞内における生化学的変化を指標とした方法においては、例えば、上述した本発明の蛋白質を安定的に発現させた細胞に、リガンドの共存下で、被検試料を接触させ、上述した生化学的指標を測定する。その結果、該生化学的指標における、例えば、cAMPの産生、細胞内Ca濃度の変化、プロテインキナーゼCの活性化などが阻害されれば、該被検試料に含まれる化合物は本発明の蛋白質のアンタゴニストであると判定される。

また、例えば、上述した本発明の蛋白質を安定的に発現させた細胞に、直接、被検試料を接触させ、上述した生化学的変化を測定することによりアゴニストを単離することもできる。

また 本発明の受容体蛋白質とリガンドとの結合を阻害する活性を指標とした、アゴニストやアンタゴニストの単離は、例えば、ファージディスプレイ法を利用して行うことが可能である。この方法においては、例えば、文献 (Nicholas C. et al. Science, vol273, p458, 1996) に従い、pSKAN Phagemid Display System (カタログ番号OB-15 18-00) を用いればよい。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物をヒトや哺乳動物、例えばマウス、ラット、モルモット、ウサギ、ニワトリ、ネコ、イヌ、ヒツジ、ブタ、ウシ、サル、マントヒヒ、チンパンジーの医薬として使用する場合、常用される手段に従って実施することができる。

例えば、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤として経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、又は懸濁液剤の注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば本発明の蛋白質と結合活性を有する物質を生理学的に認められる担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤とともに一般に認められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適当な容量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤に混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターチ、トラガントガム、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターチ、ゼラチン、アルギン酸のような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖又はサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油又はチェリーのような香味剤が用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記の材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用蒸留水のようなベヒクルを用いて通常の製剤実施に従って処方することができる。

注射用の水溶液としては、例えば生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液、例えばD-ソルビトール、D-マンノース、D-マンニトール、塩化ナトリウムが挙げられ、適当な溶解補助剤、例えばアルコール、具体的にはエタノール、ポリアルコール、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、非イオン性界面活性剤、例えばポリソルベート80 (TM)、HCO-50と併用してもよい。

油性液としてはゴマ油、大豆油があげられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールと併用してもよい。また、緩衝剤、例えばリン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液、無痛化剤、例えば、塩酸プロカイン、安定剤、例えばベンジルアルコール、フェノール、酸化防止剤と配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填させる。

本発明の蛋白質と結合活性を有する化合物の投与量は、症状により差異はあるが、経口投与の場合、一般的に成人（体重60kgとして）においては、1日あたり約0.1から100mg、好ましくは約1.0から50mg、より好ましくは約1.0から20mgである。

非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法によっても異なるが、例えば注射剤の形では通常成人（体重60kgと

して)においては、1日あたり約0.01から30mg、好ましくは約0.1から20mg、より好ましくは約0.1から10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kgあたりに換算した量を投与することができる。

本発明の抗体は、公知の手段を用いてモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体として得ることができる。

本発明の蛋白質に対して特異的に結合する抗体は、蛋白質を感作抗原として使用して、これを通常の免疫方法にしたがって免疫し、得られる免疫細胞を通常の細胞融合法によって公知の親細胞と融合させ、通常のスクリーニング法により、抗体産生細胞をスクリーニングすることによって作製できる。

具体的には、本発明の蛋白質に対して特異的に結合するモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体を作製するには次のようにすればよい。

例えば、抗体取得の感作抗原として使用される本発明の蛋白質は、その由来となる動物種に制限されないが哺乳動物、例えばヒト、マウス又はラット由来の蛋白質が好ましく、特にヒト由来の蛋白質が好ましい。ヒト由来の蛋白質は、本明細書に開示される遺伝子配列又はアミノ酸配列を用いて得ることができる。

本発明において、感作抗原として使用される蛋白質は、本明細書に記載された全ての蛋白質の生物学的活性を有する蛋白質を使用できる。また、蛋白質の部分ペプチドも用いることができる。蛋白質の部分ペプチドとしては、例えば蛋白質のアミノ基(N)末端断片やカルボキシ(C)末端断片が挙げられる。本明細書で述べる「抗体」とは蛋白質の全長又は断片に特異的に反応する抗体を意味する。

本発明の蛋白質又はその断片をコードする遺伝子を公知の発現ベクター系に挿入して本明細書で述べた宿主細胞を形質転換させた後、その宿主細胞内外又は、宿主から目的の蛋白質又はその断片を公知の方法で得、この蛋白質

を感作抗原として用いればよい。また、蛋白質を発現する細胞又はその溶解物あるいは化学的に合成した本発明の蛋白質を感作抗原として使用してもよい。

感作抗原で免疫される哺乳動物としては、特に限定されるものではないが、細胞融合に使用する親細胞との適合性を考慮して選択するのが好ましく、一般的にはげっ歯目、ウサギ目、霊長目の動物が使用される。

げっ歯目の動物としては、例えば、マウス、ラット、ハムスター等が使用される。ウサギ目の動物としては、例えば、ウサギが使用される。霊長目の動物としては、例えばサルが使用される。サルとしては、狭鼻下目のサル（旧世界ザル）、例えば、カニクイザル、アカゲザル、マントヒヒ、チンパンジー等が使用される。

感作抗原を動物に免疫するには、公知の方法にしたがって行われる。例えば、一般的方法として、感作抗原を哺乳動物の腹腔内又は、皮下に注射することにより行われる。具体的には、感作抗原をPBS（Phosphate-Buffered Saline）や生理食塩水等で適当量に希釈、懸濁したものを所望により通常のアジュバント、例えば、フロイント完全アジュバントを適量混合し、乳化後、哺乳動物に投与し、以降フロイント不完全アジュバントに適量混合した感作抗原を、4～21日毎に数回投与するのが好ましい。また、感作抗原免疫時に適当な担体を使用することができる。このように免疫し、血清中に所望の抗体レベルが上昇するのを常法により確認する。

ここで、本発明の蛋白質に対するポリクローナル抗体を得るには、血清中の所望の抗体レベルが上昇したことを確認した後、抗原を感作した哺乳動物の血液を取り出す。この血液から公知の方法により血清を分離する。ポリクローナル抗体としてポリクローナル抗体を含む血清を使用してもよいし、必要に応じこの血清からポリクローナル抗体を含む画分をさらに単離してもよい。

モノクローナル抗体を得るには、上記抗原を感作した哺乳動物の血清中に所望の抗体レベルが上昇するのを確認した後に、哺乳動物から免疫細胞を取り出し、細胞融合に付せばよい。この際、細胞融合に使用される好ましい免疫細胞として、特に脾細胞が挙げられる。前記免疫細胞と融合される他方の親細胞としては、好ましくは哺乳動物のミエローマ細胞、より好ましくは、薬剤による融合細胞選別のための特性を獲得したミエローマ細胞が挙げられる。

前記免疫細胞とミエローマ細胞の細胞融合は基本的には公知の方法、例えば、ミルステインらの方法(Galfre, G. and Milstein, C., *Methods Enzymol.* 1. (1981) 73, 3-46) 等に準じて行うことができる。

細胞融合により得られたハイブリドーマは、通常を選択培養液、例えばHAT培養液(ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジンを含む培養液)で培養することにより選択される。当該HAT培養液での培養は、目的とするハイブリドーマ以外の細胞(非融合細胞)が死滅するのに十分な時間、通常数日～数週間継続する。ついで、通常の限界希釈法を実施し、目的とする抗体を産生するハイブリドーマのスクリーニングおよびクローニングが行われる。

また、ヒト以外の動物に抗原を免疫して上記ハイブリドーマを得る他に、ヒトリンパ球、例えばEBウィルスに感染したヒトリンパ球をin vitroで蛋白質、蛋白質発現細胞又はその溶解物で感作し、感作リンパ球をヒト由来の永久分裂能を有するミエローマ細胞、例えばU266と融合させ、蛋白質への結合活性を有する所望のヒト抗体を産生するハイブリドーマを得ることもできる(特開昭63-17688)。

さらに、ヒト抗体遺伝子のレパートリーを有するトランスジェニック動物に抗原となる蛋白質、蛋白質発現細胞又はその溶解物を免疫して抗体産生細胞を取得し、これをミエローマ細胞と融合させたハイブリドーマを用いて蛋

白質に対するヒト抗体を取得してもよい（国際特許出願公開番号W092-03918、W093-2227、W094-02602、W094-25585、W096-33735およびW096-34096参照）。

ハイブリドーマを用いて抗体を産生する以外に、抗体を産生する感作リンパ球等の免疫細胞を癌遺伝子（oncogene）により不死化させた細胞を用いてもよい。

このように得られたモノクローナル抗体はまた、遺伝子組換え技術を用いて産生させた組換え型抗体として得ることができる（例えば、Borrebaeck, C. A. K. and Larrick, J. W., THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBODIES, Published in the United Kingdom by MACMILLAN PUBLISHERS LTD, 1990 参照）。組換え型抗体は、それをコードするDNAをハイブリドーマ又は抗体を産生する感作リンパ球等の免疫細胞からクローニングし、適当なベクターに組み込んで、これを宿主に導入し産生させる。本発明は、この組換え型抗体を包含する。

本発明の抗体は、本発明の蛋白質に結合するかぎり、その抗体断片や抗体修飾物であってよい。例えば、抗体断片としては、Fab、F(ab')₂、Fv又はH鎖とL鎖のFvを適当なリンカーで連結させたシングルチェーンFv(scFv) (Huston, J. S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85, 5879-5883) が挙げられる。具体的には、抗体を酵素、例えば、パパイン、ペプシンで処理し抗体断片を生成させるか、又は、これら抗体断片をコードする遺伝子を構築し、これを発現ベクターに導入した後、適当な宿主細胞で発現させる（例えば、Co, M. S. et al., J. Immunol. (1994) 152, 2968-2976 ; Bettler, M. and Horwitz, A. H., Methods Enzymol. (1989) 178, 476-496 ; Pluckthun, A. and Skerra, A., Methods Enzymol. (1989) 178, 497-515 ; Lamoyi, E., Methods Enzymol. (1986) 121, 652-663 ; Rousseaux, J. et al., Methods Enzymol. (1986) 121, 663-669 ; Bird, R. E. and Walker, B

. W., Trends Biotechnol. (1991) 9, 132-137参照)。

抗体修飾物として、ポリエチレングリコール (PEG) 等の各種分子と結合した抗体を使用することもできる。本発明の「抗体」にはこれらの抗体修飾物も包含される。このような抗体修飾物は、得られた抗体に化学的な修飾を施すことによって得ることができる。これらの方法はこの分野において既に確立されている。

また、本発明の抗体は、公知の技術を使用して非ヒト抗体由来の変領域とヒト抗体由来の定常領域からなるキメラ抗体又は非ヒト抗体由来のCDR(相補性決定領域)とヒト抗体由来のFR(フレームワーク領域)及び定常領域からなるヒト型化抗体として得ることができる。

前記のように得られた抗体は、均一にまで精製することができる。本発明で使用される抗体の分離、精製は通常の蛋白質で使われている分離、精製方法を使用すればよく、何ら限定されるものではない。上記で得られた抗体の濃度測定は吸光度の測定又は酵素結合免疫吸着検定法(Enzyme-linked immunosorbent assay ; ELISA) 等により行うことができる。

また、本発明の抗体の抗原結合活性を測定する方法として、ELISA、EIA (酵素免疫測定法)、RIA (放射免疫測定法) あるいは蛍光抗体法を用いることができる。例えば、ELISAを用いる場合、本発明の抗体を固相化したプレートに本発明の蛋白質を添加し、次いで目的の抗体を含む試料、例えば、抗体産生細胞の培養上清や精製抗体を加える。酵素、例えばアルカリフォスファターゼ等で標識した抗体を認識する二次抗体を添加し、プレートをインキュベーション、洗浄した後、p-ニトロフェニル燐酸などの酵素基質を加えて吸光度を測定することで抗原結合活性を評価することができる。蛋白質として蛋白質の断片、例えばそのC末端からなる断片あるいはN末端からなる断片を使用してもよい。本発明の抗体の活性評価には、BIAcore(Pharmacia製)を使用することができる。

これらの手法を用いることにより、本発明の抗体と試料中に含まれる本発明の蛋白質が含まれると予想される試料とを接触せしめ、該抗体と該蛋白質との免疫複合体を検出又は測定することからなる、本発明の蛋白質の検出又は測定方法を実施することができる。

本発明の蛋白質の検出又は測定方法は、蛋白質を特異的に検出又は測定することができるため、蛋白質を用いた種々の実験等に有用である。

本発明は、配列番号：1から3、24から27のいずれか一つに示される塩基配列からなるDNAまたは該DNAと相補的なDNA（相補鎖）にハイブリダイズし、少なくとも15塩基の鎖長を有するDNAを包含する。すなわち、本発明の蛋白質をコードするDNA又は該DNAと相補的なDNAと選択的にハイブリダイズし得るプローブ、ヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体、例えばアンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム等が含まれる。

本発明は、例えば、配列番号：1から3、24から27のいずれか一つに示される塩基配列中のいずれかの箇所にハイブリダイズするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。このアンチセンスオリゴヌクレオチドは、好ましくは配列番号：1から3、24から27のいずれか一つに示される塩基配列中の連続する少なくとも15個以上のヌクレオチドに対するアンチセンスオリゴヌクレオチドである。さらに好ましくは、前記連続する少なくとも15個以上のヌクレオチドが翻訳開始コドンを含む、前記のアンチセンスオリゴヌクレオチドである。

アンチセンスオリゴヌクレオチドとしては、それらの誘導体や修飾体を使用することができる。このような修飾体として、例えばメチルホスホネート型又はエチルホスホネート型のような低級アルキルホスホネート修飾体、ホスホロチオエート修飾体又はホスホロアミデート修飾体等が挙げられる。

ここでいう「アンチセンスオリゴヌクレオチド」とは、DNAまたはmRNAの所定の領域を構成するヌクレオチドに対応するヌクレオチドが全て相補的であ

るもののみならず、DNAまたはmRNAとオリゴヌクレオチドとが配列番号：1から3、24から27に示される塩基配列に選択的に安定にハイブリダイズできる限り、1又は複数個のヌクレオチドのミスマッチが存在していてもよい。

選択的に安定にハイブリダイズするとは、通常のハイブリダイゼーション条件下、好ましくはストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、他の蛋白質をコードするDNAとのクロスハイブリダイゼーションが有意に生じないことを意味する。このようなDNAとしては、少なくとも15個の連続したヌクレオチド配列領域で、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは90%、さらに好ましくは95%以上の塩基配列上の相同性を有するものを示す。なお、相同性を決定するためのアルゴリズムは本明細書に記載したものを使用すればよい。このようなDNAは、後述の実施例に記載するように本発明の蛋白質をコードするDNAを検出若しくは単離するためのプローブとして、又は増幅するためのプライマーとして有用である。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド誘導体は、本発明の蛋白質の産生細胞に作用して、該蛋白質をコードするDNAまたはmRNAに結合することにより、その転写又は翻訳を阻害したり、mRNAの分解を促進したりして、本発明の蛋白質の発現を抑制することにより、結果的に本発明の蛋白質の作用を抑制する効果を有する。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド誘導体は、それらに対して不活性な適当な基剤と混和して塗布剤、パップ剤等の外用剤とすることができる。

また、必要に応じて、賦形剤、等張化剤、溶解補助剤、安定化剤、防腐剤、無痛化剤等を加えて錠剤、散財、顆粒剤、カプセル剤、リボソームカプセル剤、注射剤、液剤、点鼻剤など、さらに凍結乾燥剤とすることができる。これらは常法にしたがって調製することができる。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド誘導体は患者の患部に直接適用

するか、又は血管内に投与するなどして結果的に患部に到達し得るように患者に適用する。さらには、持続性、膜透過性を高めるアンチセンス封入素材を用いることもできる。例えば、リボソーム、ポリ-L- リジン、リビッド、コレステロール、リボフェクチン又はこれらの誘導体が挙げられる。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチド誘導体の投与量は、患者の状態に応じて適宜調整し、好ましい量を用いることができる。例えば、0.1 ~10 0mg/kg好ましくは0.1 ~50mg/kg の範囲で投与することができる。

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは本発明の蛋白質の発現を阻害し、したがって本発明の蛋白質の生物学的活性を抑制することにおいて有用である。また、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを含有する発現阻害剤は、本発明の蛋白質の生物学的活性を抑制することが可能である点で有用である。

図面の簡単な説明

図1は、既知ヒトOlfactory 受容体とGTAR14-1及びGTAR14-2のアミノ酸配列の比較を示す。5種類の配列のうち4種類以上が一致する配列に影塗りを施した。また、5種類全てに保存された配列の下に点を施した。図中の記号は下記の通りである。

OLF1 ; ヒト Olfactory 受容体 1 (GenBank Accession# U56420)、OLF2 ; ヒト Olfactory 受容体 2 (GenBank Accession# L35475)、OLF3 ; ヒト Olfactory 受容体 3 (GenBank Accession# L56421)、14-1 ; GTAR14-1、14-2 ; GTAR14-2 (偽遺伝子)。

図2は、既知ヒトOlfactory 受容体とGTAR14-3のアミノ酸配列の比較を示す。4種類の配列のうち3種類以上が一致する配列に影塗りを施した。また、4種類全てに保存された配列の下に点を施した。図中の記号は下記の通りである。

OLF1 ; ヒト Olfactory 受容体 1 (GenBank Accession# U56420)、 OLF2 ; ヒト Olfactory 受容体 2 (GenBank Accession# L35475)、 OLF3 ; ヒト Olfactory 受容体 3 (GenBank Accession# L56421)、 14-3 ; GTAR14-3。

図 3 は、既知ヒト Olfactory 受容体と GTAR14-4、及び GTAR14-5 のアミノ酸配列の比較を示す。5 種類の配列のうち 3 種類以上が一致する配列に影塗りを施した。また、5 種類全てに保存された配列の下に点を施した。図中の記号は下記の通りである。

OLF1 ; ヒト Olfactory 受容体 1 (GenBank Accession# U56420)、 OLF2 ; ヒト Olfactory 受容体 2 (GenBank Accession# L35475)、 OLF3 ; ヒト Olfactory 受容体 3 (GenBank Accession# L56421)、 14-4 ; GTAR14-4 (偽遺伝子)、 14-5 ; GTAR14-5。

図 4 は、ジェノミック PCR により得られた、GTAR14-1 の塩基配列を示す。使用したプライマーの位置に下線を施した。14-1-S1 プライマーを右向きの矢線で示し、14-1-A1 プライマーを左向きの矢線で示した。

図 5 は、ジェノミック PCR により得られた、GTAR14-3 の塩基配列を示す。使用したプライマーの位置に下線を施した。14-3-S1 プライマーを右向きの矢線で示し、14-3-A1 プライマーを左向きの矢線で示した。

図 6 は、ジェノミック PCR により得られた、GTAR14-5 の塩基配列を示す。使用したプライマーの位置に下線を施した。14-5-S1 プライマーを右向きの矢線で示し、14-5-A1 プライマーを左向きの矢線で示した。

図 7 は、RT-PCR による各ヒト臓器における GTAR14-1 の遺伝子発現分布を解析した結果を示す写真である。

A ; Human Fetal MTC Panel (Clontech#K1425-1)、 B ; Human MTC Panel I (Clontech#K1420-1)、 C ; Human MTC Panel II (Clontech#K1421-1)。

1;胎児脳、2;胎児心臓、3;胎児腎臓、4;胎児肝臓、5;胎児肺、6;胎児筋肉、7;胎児脾臓、8;胎児胸腺、9;心臓、10;脳、11;胎盤、12;肺、13;肝臓、14

;骨格筋、15;腎臓、16;脾臓、17;脾臓、18;胸腺、19;前立腺、20;精巣、21;卵巣、22;小腸、23;結腸、24;末梢血白血球。

各写真ともレーン左端が同プライマーセットによる、ヒトゲノムDNAを鋳型とした陽性対照を示す。また、レーン右端が標準cDNAを鋳型として用い、G3PDHに対するプライマーセットによる増幅を確認した対照反応の産物を示す。

図8は、RT-PCRによる各ヒト臓器におけるGTAR14-3の遺伝子発現分布を解析した結果を示す写真である。

A ; Human Fetal MTC Panel (Clontech#K1425-1)、B ; Human MTC Panel I (Clontech#K1420-1)、C ; Human MTC Panel II (Clontech#K1421-1)。

1;胎児脳、2;胎児心臓、3;胎児腎臓、4;胎児肝臓、5;胎児肺、6;胎児筋肉、7;胎児脾臓、8;胎児胸腺、9;心臓、10;脳、11;胎盤、12;肺、13;肝臓、14;骨格筋、15;腎臓、16;脾臓、17;脾臓、18;胸腺、19;前立腺、20;精巣、21;卵巣、22;小腸、23;結腸、24;末梢血白血球。

各写真ともレーン左端が同プライマーセットによる、ヒトゲノムDNAを鋳型とした陽性対照を示す。また、レーン右端が標準cDNAを鋳型として用い、G3PDHに対するプライマーセットによる増幅を確認した対照反応の産物を示す。

図9は、RT-PCRによる各ヒト臓器におけるGTAR14-5の遺伝子発現分布を解析した結果を示す写真である。

A ; Human Fetal MTC Panel (Clontech#K1425-1)、B ; Human MTC Panel I (Clontech#K1420-1)、C ; Human MTC Panel II (Clontech#K1421-1)。

1;胎児脳、2;胎児心臓、3;胎児腎臓、4;胎児肝臓、5;胎児肺、6;胎児筋肉、7;胎児脾臓、8;胎児胸腺、9;心臓、10;脳、11;胎盤、12;肺、13;肝臓、14;骨格筋、15;腎臓、16;脾臓、17;脾臓、18;胸腺、19;前立腺、20;精巣、21;卵巣、22;小腸、23;結腸、24;末梢血白血球。

各写真ともレーン左端が同プライマーセットによる、ヒトゲノムDNAを鋳型

とした陽性対照を示す。また、レーン右端が標準cDNAを鋳型として用い、G3 PDHに対するプライマーセットによる増幅を確認した対照反応の産物を示す。

図10は、5' -RACE、及び3' -RACEによって得られた産物を複合した、GTAR14-1完全長cDNA の塩基配列を示す。また、GTAR14-1がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-I, -II, -III, -IV, -V)。

図11は、5' -RACE、及び3' -RACEによって得られた産物を複合した、GTAR14-1完全長cDNA の塩基配列の図10の続きを示す。また、GTAR14-1がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-VI, -VII)。

図12は、5' -RACE、及び3' -RACEによって得られた産物をを複合した、GTAR14-3完全長cDNA の塩基配列を示す。また、GTAR14-3がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-I, -II, -III, -IV, -V)。

図13は、5' -RACE、及び3' -RACEによって得られた産物をを複合した、GTAR14-3完全長cDNA の塩基配列の図12の続きを示す。また、GTAR14-3がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-VI, -VII)。

図14は、5' -RACE、及び3' -RACEによって得られた産物を複合した、GTAR14-5完全長cDNA の塩基配列を示す。また、GTAR14-5がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-I, -II, -III, -IV)。

図15は、5' -RACE、及び3' -RACEによって得られた産物を複合した、GTAR14-5完全長cDNA の塩基配列の図14の続きを示す。また、GTAR14-5がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-V, -VI, -VII)。

図16は、ジェノミックPCRにより得られた、GTAR11-1の塩基配列を示す。使用したプライマーの位置に下線を施した。11-1-S2プライマーを右向きの矢線で示し、11-1-A3プライマーを左向きの矢線で示した。

図17は、ジェノミックPCRにより得られた、GTAR11-2の塩基配列を示す。使用したプライマーの位置に下線を施した。11-2-S2プライマーを右向きの矢線で示し、11-2-A2プライマーを左向きの矢線で示した。

図18は、ジェノミックPCRにより得られた、GTAR11-3の塩基配列を示す。使用したプライマーの位置に下線を施した。11-3-S2プライマーを右向きの矢線で示し、11-3-A2プライマーを左向きの矢線で示した。

図19は、ジェノミックPCRにより得られた、GTAR11-4の塩基配列を示す。使用したプライマーの位置に下線を施した。11-4-S2プライマーを右向きの矢線で示し、11-4-A2プライマーを左向きの矢線で示した。

図20は、RT-PCRによる各ヒト臓器におけるGTAR11-1の遺伝子発現分布を解析した結果を示す写真である。

A ; Human Fetal MTC Panel (Clontech#K1425-1)、B ; Human MTC Panel I (Clontech#K1420-1)、C ; Human MTC Panel II (Clontech#K1421-1)。
1;胎児脳、2;胎児心臓、3;胎児腎臓、4;胎児肝臓、5;胎児肺、6;胎児筋肉、7;胎児脾臓、8;胎児胸腺、9;脳、10;心臓、11;腎臓、12;肝臓、13;肺、14;脾臓、15;胎盤、16;骨格筋、17;結腸、18;卵巣、19;末梢血白血球、20;前立腺、21;小腸、22;脾臓、23;精巣、24;胸腺。

各写真ともレーン左端が同プライマーセットによる、ヒトゲノムDNAを鋳型とした陽性対照を示す。また、レーン右端が標準cDNAを鋳型として用い、G3PDHに対するプライマーセットによる増幅を確認した対照反応の産物を示す。

図21は、RT-PCRによる各ヒト臓器におけるGTAR11-2の遺伝子発現分布を解析した結果を示す写真である。

A ; Human Fetal MTC Panel (Clontech#K1425-1)、B ; Human MTC Panel

I (Clontech#K1420-1)、C ; Human MTC Panel II (Clontech#K1421-1)。
1;胎児脳、2;胎児心臓、3;胎児腎臓、4;胎児肝臓、5;胎児肺、6;胎児筋肉、7;
胎児脾臓、8;胎児胸腺、9;脳、10;心臓、11;腎臓、12;肝臓、13;肺、14;脾
臓、15;胎盤、16;骨格筋、17;結腸、18;卵巣、19;末梢血白血球、20;前立腺
、21;小腸、22;脾臓、23;精巣、24;胸腺。

各写真ともレーン左端が同プライマーセットによる、ヒトゲノムDNAを鋳型
とした陽性対照を示す。また、レーン右端が標準cDNAを鋳型として用い、G3
PDHに対するプライマーセットによる増幅を確認した対照反応の産物を示す。

図22は、RT-PCRによる各ヒト臓器におけるGTAR11-3の遺伝子発現分布を
解析した結果を示す写真である。

A ; Human Fetal MTC Panel (Clontech#K1425-1)、B ; Human MTC Panel
I (Clontech#K1420-1)、C ; Human MTC Panel II (Clontech#K1421-1)。
1;胎児脳、2;胎児心臓、3;胎児腎臓、4;胎児肝臓、5;胎児肺、6;胎児筋肉、7;
胎児脾臓、8;胎児胸腺、9;脳、10;心臓、11;腎臓、12;肝臓、13;肺、14;脾
臓、15;胎盤、16;骨格筋、17;結腸、18;卵巣、19;末梢血白血球、20;前立腺
、21;小腸、22;脾臓、23;精巣、24;胸腺。

各写真ともレーン左端が同プライマーセットによる、ヒトゲノムDNAを鋳型
とした陽性対照を示す。また、レーン右端が標準cDNAを鋳型として用い、G3
PDHに対するプライマーセットによる増幅を確認した対照反応の産物を示す。

図23は、RT-PCRによる各ヒト臓器におけるGTAR11-4の遺伝子発現分布を
解析した結果を示す写真である。

A ; Human Fetal MTC Panel (Clontech#K1425-1)、B ; Human MTC Panel
I (Clontech#K1420-1)、C ; Human MTC Panel II (Clontech#K1421-1)。
1;胎児脳、2;胎児心臓、3;胎児腎臓、4;胎児肝臓、5;胎児肺、6;胎児筋肉、7;
胎児脾臓、8;胎児胸腺、9;脳、10;心臓、11;腎臓、12;肝臓、13;肺、14;脾
臓、15;胎盤、16;骨格筋、17;結腸、18;卵巣、19;末梢血白血球、20;前立腺

、21;小腸、22;脾臓、23;精巣、24;胸腺。

各写真ともレーン左端が同プライマーセットによる、ヒトゲノムDNAを鋳型とした陽性対照を示す。また、レーン右端が標準cDNAを鋳型として用い、G3PDHに対するプライマーセットによる増幅を確認した対照反応の産物を示す。

図24は、5'-RACE、及び3'-RACEによって得られた産物を複合した、GTAR11-1 cDNA の塩基配列を示す。また、GTAR11-1がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-I, -II, -III, -IV, -V, -VI, -VII)。

図25は、5'-RACE、及び3'-RACEによって得られた産物を複合した、GTAR11-2 cDNA の塩基配列を示す。また、GTAR11-2がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-I, -II, -III, -IV, -V, -VI, -VII)。

図26は、5'-RACE、及び3'-RACEによって得られた産物を複合した、GTAR11-3 cDNA の塩基配列を示す。また、GTAR11-3がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-I, -II, -III, -IV, -V, -VI, -VII)。

図27は、5'-RACE、及び3'-RACEによって得られた産物を複合した、GTAR11-4 cDNA の塩基配列を示す。また、GTAR11-4がコードするアミノ酸配列も併記した。さらに、膜貫通領域と予測されるアミノ酸配列に下線を施した(TM-I, -II, -III, -IV, -V, -VI, -VII)。

図28は、既知ヒトOlfactory 受容体とGTAR11-1のアミノ酸配列の比較を示す。4種類の配列のうち3種類以上が一致する配列に影塗りを施した。また、4種類全てに保存された配列の下に点を施した。また、糖修飾を受ける[N-x-S / T] (x は任意のアミノ酸) モチーフの「N」、ジスルフィド結合による架橋のための保存されたシステイン残基、および細胞内のG 蛋白質との結合に不可欠であることが示唆されている第2細胞内領域の[M-A-Y-D-R-Y-

L/V-A-I/V-C] 配列中の「D-R-Y」をアンダーラインで示した。図中の記号は下記の通りである。

OLF1 ; ヒト Olfactory 受容体 1 (GenBank Accession# U56420)、OLF2 ; ヒト Olfactory 受容体 2 (GenBank Accession# L35475)、OLF3 ; ヒト Olfactory 受容体 3 (GenBank Accession# L56421)、11-1 ; GTAR11-1。

図 29 は、既知ヒト Olfactory 受容体と GTAR11-2 のアミノ酸配列の比較を示す。3 種類全てに保存された配列を点で示した。また、糖修飾を受ける [N-x-S / T] (x は任意のアミノ酸) モチーフの「N」、ジスルフィド結合による架橋のための保存されたシステイン残基、および細胞内の G 蛋白質との結合に不可欠であることが示唆されている第 2 細胞内領域の [M-A-Y-D-R-Y-L/V-A-I/V-C] 配列中の「D-R-Y」をアンダーラインで示した。図中の記号は下記の通りである。

OLF2 ; ヒト Olfactory 受容体 2 (GenBank Accession# L35475)、OLF3 ; ヒト Olfactory 受容体 3 (GenBank Accession# L56421)、11-2 ; GTAR11-2。

図 30 は、既知ヒト Olfactory 受容体と GTAR11-3 のアミノ酸配列の比較を示す。3 種類全てに保存された配列の下に点を施した。また、糖修飾を受ける [N-x-S / T] (x は任意のアミノ酸) モチーフの「N」、ジスルフィド結合による架橋のための保存されたシステイン残基、および細胞内の G 蛋白質との結合に不可欠であることが示唆されている第 2 細胞内領域の [M-A-Y-D-R-Y-L/V-A-I/V-C] 配列中の「D-R-Y」をアンダーラインで示した。図中の記号は下記の通りである。

OLF2 ; ヒト Olfactory 受容体 2 (GenBank Accession# L35475)、OLF3 ; ヒト Olfactory 受容体 3 (GenBank Accession# L56421)、11-3 ; GTAR11-3。

図 31 は、既知ヒト Olfactory 受容体と GTAR11-4 のアミノ酸配列の比較を

示す。3種類全てに保存された配列の下に点を施した。また、糖修飾を受ける[N-x-S / T] (x は任意のアミノ酸) モチーフの「N」、ジスルフィド結合による架橋のための保存されたシステイン残基、および細胞内のG 蛋白質との結合に不可欠であることが示唆されている第2細胞内領域の[M-A-Y-D-R-Y-L/V-A-I/V-C] 配列中の「D-R-Y」をアンダーラインで示した。図中の記号は下記の通りである。

OLF2 ; ヒト Olfactory 受容体 2 (GenBank Accession# L35475)、 OLF3 ; ヒト Olfactory 受容体 3 (GenBank Accession# L56421)、 11-4 ; GTAR1 1-4。

発明を実施するための最良の形態

[実施例1] GTAR14遺伝子の単離および解析

(1) Blast 検索

Blast 検索により、GenBank の nr (Non-redundant Sequence) データベースから、既知の Olfactory 受容体(OR)遺伝子ファミリーと構造的に高い相同性を保有する、新規7回膜貫通型G蛋白質結合型受容体遺伝子を含むヒトゲノム配列を見出した。見出された遺伝子は、 α/δ T-細胞受容体座位近傍のヒト第14染色体に由来するBAC129クローン(GenBank Accession# U85195)の配列内に認められ、既知のヒトOlfactory 受容体 1(OLF1)、OLF2、及びOLF3とアミノ酸翻訳レベルで約50%~60%の相同性を示した。

後述する遺伝子発現様態の解析結果と機能予測結果から、単離した3つの遺伝子をそれぞれ「G-protein-coupled T-cell Activating Receptor 14-1」(GTAR14-1)、「G-protein-coupled T-cell Activating Receptor 14-3」(GTAR14-3)、「G-protein-coupled T-cell Activating Receptor 14-5」(GTAR14-5)と命名した。

既知OR遺伝子群のゲノム構造は、それらをコードするゲノム配列の1つの

エクソン配列内に、開始コドンから終始コドンまでのORFを含んでいる特徴を持つ。GTAR14-1、GTAR14-3、およびGTAR14-5も同様に、1つのエクソンと考えられる配列内にORFの全長を認めることができた。

ここで、同じBAC129クローンの配列内に、別の新規OR様遺伝子も同時に見出し、それぞれGTAR14-2、GTAR14-4と命名した。GTAR14-2を他のOR遺伝子群と比較して、アミノ酸翻訳レベルでの相同性を得るためには、途中で1塩基の欠損があり、相同的配列が2つのORFに分断された。一方、GTAR14-4を他のOR遺伝子群と比較して、アミノ酸翻訳レベルでの相同性を得ようとする、第2細胞外領域(ループ-1)にインフレームの終始コドンが出現し、相同的配列が2つのORFに分断された。従って、これらは、典型的なOR遺伝子群の偽遺伝子であると判断できたため、検索対象から除外した。

図1に既知のヒトOLF1、OLF2、及びOLF3と、GTAR14-1、及びGTAR14-2のアミノ酸配列を比較して記載するが、GTAR14-2においては欠損した1塩基を任意の塩基で補うことにより、人為的に翻訳枠を模造したアミノ酸配列である。

また、図2に既知のヒトOLF1、OLF2、及びOLF3と、GTAR14-3のアミノ酸配列を比較して記載する。

また、図3に既知のヒトOLF1、OLF2、及びOLF3と、GTAR14-4、及びGTAR14-5のアミノ酸配列を比較して記載するが、GTAR14-4においては途中のインフレームの終始コドンを読み越して、人為的に翻訳枠を模造したアミノ酸配列である。

(2) ジェノミックPCR によるGTAR14-1遺伝子、GTAR14-3遺伝子、およびGTAR14-5遺伝子の単離

BAC129クローンU85195の配列内において、既知OLFレセプターにアミノ酸翻訳レベルで、広く保存されているエクソン領域を予測し、その予測したエクソン領域の配列上に以下のプライマーを合成した。

GTAR14-1増幅用のプライマーとしては、センスプライマーとして、GTAR14-1-S1「5'- ATG GAC AGT CTA AAC CAA ACA AGA GTG -3' / 配列番号 : 7」、GTAR14-1-S2「5'- ATG GCA TTC TCA GCC ATT TAT ATG CTA -3' / 配列番号 : 8」、「GTAR14-1-S3」(5'- GGG AAC ATT CTC ATC ATC ATT GCC ACA -3' / 配列番号 : 9)を、アンチセンスプライマーとして、GTAR14-1-A1「5'- TTA TG T ATA TGA TTT CGT GAA AAA AAC -3' / 配列番号 : 10」、GTAR14-1-A2「5'- TAC CTC CTC ATT CCT CAA GGT GTA AAT -3' / 配列番号 : 11」、GTAR14-1-A3「5'- GGT GAC CAC TGT GTA GAA GAC AGA CAC -3' / 配列番号 : 12」を用いた。

また、GTAR14-3増幅用のプライマーとしては、センスプライマーとして、GTAR14-3-S1「5'- ATG GAA AGA ATC AAC AGC ACA CTG TTG -3' / 配列番号 : 13」、GTAR14-3-S2「5'- TCT AAT CTA CAT CCT GAC TCA GCT GGG -3' / 配列番号 : 14」を、アンチセンスプライマーとして、GTAR14-3-A1「5'- TTC AAA CCT CAC TCG GAG TTC TTG GGC -3' / 配列番号 : 15」、GTAR14-3-A2「5'- AGC TTC ACC TCT TGG TTC CGC AGA GTG -3' / 配列番号 : 16」を用いた。

また、GTAR14-5増幅用のプライマーとしては、センスプライマーとして、GTAR14-5-S1「5'- ATG GGA AAG ACC AAA AAC ACA TCG CTG -3' / 配列番号 : 17」、GTAR14-5-S2「5'- CGT GGT GAC AGA TTT CAT TCT TCT GGG -3' / 配列番号 : 18」を、アンチセンスプライマーとして、GTAR14-5-A1「5'- TCA ACC T GC TGT TAT CCT CTT CAG GGC -3' / 配列番号 : 19」、GTAR14-5-A2「5'- CCT GGT TCC TCA GTG TAT AGA TGA GGG -3' / 配列番号 : 20」を用いた。

Human Genomic DNA(Clontech#6550-1) を鋳型として用い、GTAR14-1増幅のために「14-1-S1および14-1-A1」、「14-1-S1および14-1-A2」、「14-1-S2および14-1-A1」、「14-1-S2および14-1-A2」の各組合わせ、GTAR14-3増幅のために「14-3-S1および14-3-A1」、「14-3-S1および14-3-A2」、「14-3-S2および14-3-A1」、「14-3-S2および14-3-A2」の各組合わせ、GTAR14-5増幅のために「14-5

-S1および14-5-A1」、「14-5-S1および14-5-A2」、「14-5-S2および14-5-A1」、「14-5-S2および14-5-A2」の各組合わせによるジェノミックPCRを試みた。PCRにはAdvantage cDNA Polymerase Mix (Clontech #8417-1) を用い、Perkin Elmer Gene Amp PCR System 2400サーマルサイクラーを使用した。PCR反応は下記の実験条件にて実施したところ、それぞれのプライマーでの組合わせにおいて、予想されるサイズに単一のバンドが検出された。

なお、PCRの条件は、94℃で4分、「94℃で20秒、72℃で2分」を5サイクル、「94℃で20秒、70℃で2分」を5サイクル、「94℃で20秒、68℃で2分」を28サイクル、72℃で4分、および4℃で終結で行った。

得られたジェノミック PCR 産物を、pGEM-T Easy vector (Promega#A1360) にサブクローニングし、塩基配列を決定した。PCR 産物のpGEM-T Easy vectorへの組換えは、T4 DNA リガーゼ(Promega#A1360) によって、4℃で12時間の反応をおこなった。PCR 産物とpGEM-T Easy vectorの遺伝子組換え体は、大腸菌株 DH5 α (Toyobo#DNA-903)を形質転換することによって得られた。また、遺伝子組換え体の選別には、Insert Check Ready (Toyobo#PIK-101)を用いた。さらに、塩基配列の決定には、dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kit (ABI/Perkin Elmer#4303141)を使用し、ABI PRISM 377 DNA Sequencer によって解析をおこなった。

ここで標的遺伝子断片の最も外側に位置するプライマーどうしの組合わせによるジェノミックPCR 産物、即ち、GTAR14-1遺伝子の増幅においては14-1-S1および14-1-A1のプライマーセットを用いた増幅産物、GTAR14-3遺伝子の増幅においては14-3-S1および14-3-A1のプライマーセットを用いた増幅産物、GTAR14-5伝子の増幅においては14-5-S1および14-5-A1のプライマーセットを用いた増幅産物より、それぞれ独立する10クロンの遺伝子組換え体を選別し、全インサート断片の塩基配列を決定した。

その結果、GTAR14-1遺伝子およびGTAR14-3遺伝子の増幅においては全クロ

ーンともに942 bpの単一な塩基配列を示した。また、GTAR14-5伝子の増幅においては全クローンともに933 bpの単一な塩基配列を示した。これらの得られた配列が、それぞれの遺伝子の部分塩基配列であることを確認し、非特異的なジェノミックPCR増幅でないことを認めた。これにより、実施例3に記載のRT-PCRにおいても、これらプライマーセットが正しく作用できるであろうことが期待された。ジェノミックPCRにより得られたGTAR14-1、GTAR14-3、およびGTAR14-5の部分塩基配列をそれぞれ図4、5、6および配列番号：21、22、23に示す。

(3) RT-PCRによるGTAR14-1、GTAR14-3遺伝子、GTAR14-5遺伝子の発現組織の検索と発現様態の解析

各ヒト臓器におけるGTAR14-1の遺伝子発現分布、及び遺伝子発現様態を解析するために、GTAR14-1遺伝子、GTAR14-3遺伝子、GTAR14-5遺伝子の増幅においては、それぞれ「14-1-S2および14-1-A2」の組合わせ、「14-3-S2および14-3-A2」の組合わせ、「14-5-S2および14-5-A2」の組合わせによる、RT-PCRを行った。

鋳型として、Human Fetal Multiple Tissue cDNA Panel (Clontech#K1425-1)、Human Multiple Tissue cDNA Panel I (Clontech#K1420-1) 及び、Human Multiple Tissue cDNA Panel II (Clontech#K1421-1)を用いた。PCRにはAdvantage cDNA Polymerase Mix (Clontech#8417-1)を用い、Perkin Elmer Gene Amp PCR System 2400サーマルサイクラーを使用した。PCRの条件は、94°Cで4分、「94°Cで20秒、72°Cで2分」を5サイクル、「94°Cで20秒、70°Cで2分」を5サイクル、「94°Cで20秒、68°Cで2分」を38サイクル、72°Cで4分、および4°Cで終結で行った。

この結果、ヒト胎児臓器由来のGTAR14-1 mRNA においては、胎児胸腺でのみ強いPCR産物の増幅が認められ、成人臓器由来のmRNA においては、胸腺、脾臓といったリンパ造血系、及び精巣と膵臓において特に強く検出された（

図7)。

ヒト胎児臓器由来のGTAR14-3 mRNA においては、胸腺、脳、心臓、平滑筋、及び腎臓で強いPCR 産物の増幅が認められ、また、肝臓と肺においても弱い遺伝子発現が認められた。成人臓器由来のmRNA においては、胸腺、及び精巣において特に強く検出された。また、小腸、結腸などの消化管や、胎盤、前立腺といった内分泌系でも遺伝子発現が認められ、幅広い発現組織分布を示した(図8)。

ヒト胎児臓器由来のGTAR14-5 mRNA においては、胎児胸腺、胎児脾臓、胎児肺で強いPCR 産物の増幅が認められ、また、胎児脳、胎児腎臓においても弱い遺伝子発現が認められた。一方、成人臓器由来のmRNA においては、胸腺、脾臓、末梢白血球といったリンパ造血系、及び精巣、脾臓において強く検出された(図9)。

得られたそれぞれのPCR 産物を、pGEM-T Easy vector (Promega #A1360) にサブクローニングし、塩基配列を決定した。PCR 産物のpGEM-T Easy vectorへの組換えは、T4 DNA Ligase(Promega#A1360) によって、4°Cで12時間の反応をおこなった。PCR 産物とpGEM-T Easy vectorの遺伝子組換え体は、大腸菌株 DH5 α (Toyobo#DNA-903)を形質転換することによって得られた。また、遺伝子組換え体の選別には、Insert Check Ready (Toyobo#PIK-101)を用いた。さらに、塩基配列の決定には、dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kit (ABI/Perkin Elmer#4303141)を使用し、ABI PRISM 377 DNA Sequencer によって解析をおこなった。それぞれ独立する10クロンの遺伝子組換え体に対し、全インサート断片の塩基配列を決定した結果、全クロンともに単一の塩基配列を示した。

得られた配列が、それぞれGTAR14-1、GTAR14-3、GTAR14-5の部分塩基配列である事を確認し、非特異的なRT-PCR増幅でないことを認めた。

(4) 5'-及び3'-RACE法による完全長cDNAクローニング

(i) 5' -RACE法

GTAR14-1、GTAR14-3、およびGTAR14-5の全長 cDNA を単離するために、5' RACE-PCRを試みた。GTAR14-1遺伝子、GTAR14-3遺伝子、およびGTAR14-5遺伝子の増幅のために、一次PCRには、それぞれ14-1-A1、14-3-A1、14-5-A1を、二次PCRにはそれぞれ14-1-A2、14-3-A2、14-5-A2をプライマーとして用いた。

鋳型としてHuman Testis Marathon-Ready cDNA Library (Clontech#7414-1) を用い、PCR 実験にはAdvantage cDNA Polymerase Mixを使用した。Perkin Elmer Gene Amp PCR System 2400サーマルサイクラーを使用し、下記のPCR 条件で行った結果、単一のサイズを示すPCR産物が得られた。

一次PCRは、94℃で4分、「94℃で20秒、72℃で2分」を5サイクル、「94℃で20秒、70℃で2分」を5サイクル、「94℃で20秒、68℃で2分」を30サイクル、72℃で4分、および4℃で終結の条件で行った。二次PCRは、94℃で4分、「94℃で20秒、72℃で2分」を5サイクル、「94℃で20秒、68℃で2分」を28サイクル、72℃で4分、および4℃で終結の条件で行った。

得られた5' RACE-PCR 産物は、前記同様、pGEM-T Easy vector にサブクローニングし、独立する6クローンの遺伝子組換え体に対し、全インサート断片の塩基配列を決定した。塩基配列の決定には前記同様、dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kitを使用し、ABI PRISM 377 DNA Sequencer によって解析をおこなった。

(ii) 3' -RACE法

GTAR14-1、GTAR14-3、およびGTAR14-5の全長 cDNA を単離するために、3' RACE-PCRを試みた。GTAR14-1遺伝子、GTAR14-3遺伝子、およびGTAR14-5遺伝子の増幅のために、一次PCRには、それぞれ14-1-S1、14-3-S1、14-5-S1を、二次PCRにはそれぞれ14-1-S2、14-3-S2、14-5-S2をプライマーとして用いた。

鋳型として5' RACE-PCR同様、Human Testis Marathon-Ready cDNA Libraryを用い、PCR 実験にはAdvantage cDNA Polymerase Mixを使用した。PCR 条件は前記5' RACE-PCR同様の条件で行った結果、単一なサイズを示すPCR産物のバンドが得られた。それぞれの遺伝子に関し、得られたPCR 産物を、前記同様、pGEM-T Easy vectorにサブクローニングし、独立する6クローンの遺伝子組換え体に対し、全インサート断片の塩基配列を決定した。塩基配列の決定は、前記同様、dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kitを使用し、ABI PRISM 377 DNA Sequencer によって解析をおこなった。この結果、それぞれの遺伝子に関し、独立した全6クローンともに単一の塩基配列を示した。この3' RACE-PCRの結果、決定した塩基配列と、前述の5' RACE-PCRの結果により決定した塩基配列とを総合することによって、GTAR14-1、GTAR14-3、およびGTAR14-5の完全長cDNAの塩基配列を決定した。決定した完全長cDNAの塩基配列を、図10および11 (GTAR14-1)、図12および13 (GTAR14-3)、図14および15 (GTAR14-5)、並びに配列番号：1 (GTAR14-1)、配列番号：2 (GTAR14-3)、配列番号：3 (GTAR14-5) に示した。

[実施例2] GTAR11遺伝子の単離および解析

(1) Blast 検索

既知の Olfactory受容体(OR)遺伝子ファミリーを構造的に比較した場合、第2細胞膜貫通領域と第7細胞膜貫通領域をコードするアミノ酸配列において、高い相同性を認めることができる。そこで本発明者らは、この二つの領域のうち、第2細胞膜貫通領域の保存されたアミノ酸配列である[LHTPMYFFL SNLSF] 配列を質問式(query)として用い、GenBank の htgs (High Throughput Genomic Sequence) データベースに対しBlast 検索をおこなうことで、同遺伝子群に属する新規有用遺伝子配列の検索を試みた。検索条件としては、TblastN(Ver.2.0.5)プログラムのデフォルト値(初期設定値)条件に従った。その結果、陽性対照として多くの既知OR遺伝子配列を検出した以外に、それ

ら既知OR遺伝子配列と構造的に高い相同性を保有する、複数のヒトゲノム配列を見出した。これら遺伝子は、ヒト第11染色体に由来するBAC clone (Gen Bank Accession# AC002556)の配列内に認められ、既知のヒトOlfactory Receptor 1(OLF1)、OLF2、及びOLF3とアミノ酸翻訳レベルで約30%~40%の相同性を示した。後述する遺伝子発現様態の解析結果と機能予測結果から、見出した4つの遺伝子をそれぞれ「G-protein-coupled T-cell Activating Receptor 11-1」(GTAR11-1)、「G-protein-coupled T-cell Activating Receptor 11-2」(GTAR11-2)、「G-protein-coupled T-cell Activating Receptor 11-3」(GTAR11-3)、「G-protein-coupled T-cell Activating Receptor 11-4」(GTAR11-4)と命名した。

(2) ジェノミックPCR によるGTAR11遺伝子の単離

BAC clone AC002556の配列内において、既知OLFレセプターにアミノ酸翻訳レベルで、広く保存されているExon領域を予測し、その予測したExon領域の配列上に以下のプライマーを合成した。

GTAR11-1増幅用のプライマーとしては、センスプライマーとして、GTAR11-1-S1「5'- GAA GAG CAG TGA GGG TCC ATG TTA AGG -3' /配列番号: 34」、GTAR11-1-S2「5'- CAG CAG CTT GTC CTT CGT CGA TTT CTG C -3' /配列番号: 35」を、アンチセンスプライマーとして、GTAR11-1-A2「5'- GCT AGG GTG GGC ACC AAG GTG TTA AAC CC -3' /配列番号: 36」、GTAR11-1-A3「5'- TGC AAA AGG ACA GTT TCA TCA TGG CAC -3' /配列番号: 37」を用いた。

また、GTAR11-2増幅用のプライマーとしては、センスプライマーとして、GTAR11-2-S1「5'- CAA AGA ACT CAC CCA AAT TCC TAC AGC T -3' /配列番号: 38」、GTAR11-2-S2「5'- CAT GGT AGG CAA CCT TGG CTT GAT CAC -3' /配列番号: 39」を、アンチセンスプライマーとして、GTAR11-2-A1「5'- GTT TAT TAA ATC ACA CAT AAC ACC ATC TG -3' /配列番号: 40」、GTAR11-2-A2「5'- CAG AGA CAG AGC AAT GAC ATG AGA GCT AC -3' /配列番号: 41」を用

いた。

また、GTAR11-3増幅用のプライマーとしては、センスプライマーとして、GTAR11-3-S1「5'-CAA AGA ACT CAC CCA AAT TCC TAC AGC C -3' / 配列番号 : 42」、GTAR11-3-S2「5'-CAT GGT AGG CAA CCT TGG CTT GAT CAT -3' / 配列番号 : 43」を、アンチセンスプライマーとして、GTAR11-3-A1「5'-GTT TAT TAA ATC ACA CAT AAC ACC ATC TG -3' / 配列番号 : 44」、GTAR11-3-A2「5'-CAG AGA CAG AGC AAT GAC ATG AGA GCT AC -3' / 配列番号 : 45」を用いた。

また、GTAR11-4増幅用のプライマーとしては、センスプライマーとして、GTAR11-4-S1「5'-CCA GAC AGC TCG CCA AGA GAG AAT GAC -3' / 配列番号 : 46」、GTAR11-4-S2「5'-CCT TTA TAG ATC TCT GTT ATT CCT GTG TG -3' / 配列番号 : 47」を、アンチセンスプライマーとして、GTAR11-4-A1「5'-TCG GTT GCC AGT GAT ATG AAG AGA CCC -3' / 配列番号 : 48」、GTAR11-4-A2「5'-GGC TTT GGA TCT GCC CTC TGC AGA AGG -3' / 配列番号 : 49」を用いた。

Human Genomic DNA(Clontech#6550-1) を鋳型として用い、GTAR11-1増幅のために「11-1-S1および11-1-A2」、「11-1-S1および11-1-A3」、「11-1-S2および11-1-A2」、「11-1-S2および11-1-A3」の各組合わせ、GTAR11-2増幅のために「11-2-S1および11-2-A1」、「11-2-S1および11-2-A2」、「11-2-S2および11-2-A1」、「11-2-S2および11-2-A2」の各組合わせ、GTAR11-3増幅のために「11-3-S1および11-3-A1」、「11-3-S1および11-3-A2」、「11-3-S2および11-3-A1」、「11-3-S2および11-3-A2」の各組合わせ、GTAR11-4増幅のために「11-4-S1および11-4-A1」、「11-4-S1および11-4-A2」、「11-4-S2および11-4-A1」、「11-4-S2および11-4-A2」の各組合わせによるジェノミックPCRを試みた。PCRにはAdvantage cDNA Polymerase Mix (Clontech #8417-1) を用い、Perkin Elmer Gene Amp PCR System 2400サーマルサイクラーを使用した。PCRの 条件は、

94°Cで4分、「94°Cで20秒、72°Cで2分」を5サイクル、「94°Cで20秒、70°Cで2分」を5サイクル、「94°Cで20秒、68°Cで2分」を28サイクル、72°Cで4分、および4°Cで終結で行った。その結果、それぞれのプライマーでの組合わせにおいて、予想されるサイズに単一のバンドが検出された。

得られたジェノミック PCR 産物を、pGEM-T Easy vector (Promega#A1360) にサブクローニングし、塩基配列を決定した。PCR 産物のpGEM-T Easy vectorへの組換えは、T4 DNA リガーゼ(Promega#A1360) によって、4°Cで12時間の反応をおこなった。PCR 産物とpGEM-T Easy vectorの遺伝子組換え体は、大腸菌株 DH5 α (Toyobo#DNA-903)を形質転換することによって得られた。また、遺伝子組換え体の選別には、Insert Check Ready (Toyobo#PIK-101)を用いた。さらに、塩基配列の決定には、dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kit (ABI/Perkin Elmer#4303141)を使用し、ABI PRISM 377 DNA Sequencer によって解析をおこなった。

ここで標的遺伝子断片のORF内に位置するプライマーどうしの組合わせによるジェノミックPCR 産物、即ち、GTAR11-1遺伝子の増幅においては11-1-S2および11-1-A3のプライマーセットを用いた増幅産物、GTAR11-2遺伝子の増幅においては11-2-S2および11-2-A2のプライマーセット、GTAR11-3遺伝子の増幅においては11-3-S2および11-3-A2のプライマーセット、GTAR11-4遺伝子の増幅においては11-4-S2および11-4-A2のプライマーセットを用いた増幅産物より、それぞれ独立する10クローンの遺伝子組換え体を選別し、全インサート断片の塩基配列を決定した。

その結果、GTAR11-1遺伝子の増幅においては全クローンともに450 bpの単一の塩基配列を示した。また、GTAR11-2遺伝子およびGTAR11-3遺伝子の増幅においては全クローンともに637 bpの単一の塩基配列を示した。また、GTAR11-4遺伝子の増幅においては全クローンともに509 bpの単一の塩基配列を示した。これらの得られた配列が、それぞれの遺伝子の部分塩基配列であるこ

とを確認し、非特異的なジェノミックPCR増幅でないことを確認した。これにより、実施例3に記載のRT-PCRにおいても、これらプライマーセットが正しく作用できるであろうことが期待された。ジェノミックPCRにより得られたGTAR11-1、GTAR11-2、GTAR11-3、およびGTAR11-4の部分塩基配列をそれぞれ図16, 17, 18, 19および配列番号: 50, 51, 52, 53に示す。

(3) RT-PCRによるGTAR11遺伝子の発現組織の検索と発現様態の解析

各ヒト臓器におけるGTAR11遺伝子の発現分布、及び遺伝子発現様態を解析するために、GTAR11-1遺伝子、GTAR11-2遺伝子、GTAR11-3遺伝子、GTAR11-4遺伝子の増幅においては、それぞれ「11-1-S2および11-1-A2」の組合わせ、「11-2-S2および11-2-A2」の組合わせ、「11-3-S2および11-3-A2」の組合わせ、「11-4-S2および11-4-A2」の組合わせによる、RT-PCRを行った。

鋳型として、Human Fetal Multiple Tissue cDNA Panel (Clontech#K1425-1)、Human Multiple Tissue cDNA Panel I (Clontech#K1420-1) 及び、Human Multiple Tissue cDNA Panel II (Clontech#K1421-1)を用いた。PCRにはAdvantage cDNA Polymerase Mix (Clontech#8417-1)を用い、Perkin Elmer Gene Amp PCR System 2400サーマルサイクラーを使用した。PCRの条件は、94°Cで4分、「94°Cで20秒、72°Cで2分」を5サイクル、「94°Cで20秒、70°Cで2分」を5サイクル、「94°Cで20秒、68°Cで2分」を38サイクル、72°Cで4分、および4°Cで終結で行った。

この結果、ヒト胎児臓器由来のGTAR11-1 mRNA においては、胎児脾臓で強いPCR産物の増幅が認められた他、胎児脳、胎児肺、胎児平滑筋においても弱い遺伝子発現が検出された。成人臓器由来のmRNA においては、胸腺、脾臓、末梢リンパ球といったリンパ造血系、小腸、結腸などの消化管、及び生殖器官や神経系、内分泌系などにおいて幅広い遺伝子発現が検出された(図20)。

ヒト胎児臓器由来のGTAR11-2 mRNA においては、胎児胸腺で強いPCR産物

の増幅が認められた他、胎児脾臓、胎児平滑筋、胎児肺、胎児腎臓でも弱い遺伝子発現が認められた。成人臓器由来のmRNA においては、胸腺、末梢リンパ球といったリンパ造血系以外に、消化管、及び生殖器系や神経系、内分泌系などにおいても幅広く検出された (図21)。

ヒト胎児臓器由来のGTAR11-3 mRNA においては、胎児平滑筋で強いPCR 産物の増幅が認められた他、胎児脳、胎児肺、胎児肝臓においても弱い遺伝子発現が検出された。成人臓器由来のmRNA においては、胸腺、脾臓、末梢リンパ球といったリンパ造血系、小腸、結腸などの消化管や筋肉、及び生殖器系や神経系、内分泌系などにおいて幅広い遺伝子発現が検出された (図22)。

ヒト胎児臓器由来のGTAR11-4 mRNA においては、胎児平滑筋でのみ強いPCR 産物の増幅が認められ、成人臓器由来のmRNA においては、胸腺、脾臓、末梢リンパ球といったリンパ造血系、小腸、結腸などの消化管、及び生殖器系や内分泌系、筋肉などにおいて幅広い遺伝子発現分布が認められた (図23)。

得られたそれぞれのPCR 産物を、pGEM-T Easy vector (Promega #A1360) にサブクローニングし、塩基配列を決定した。PCR 産物のpGEM-T Easy vectorへの組換えは、T4 DNA Ligase(Promega#A1360) によって、4°Cで12時間の反応をおこなった。PCR 産物とpGEM-T Easy vectorの遺伝子組換え体は、大腸菌株 DH5 α (Toyobo#DNA-903)を形質転換することによって得られた。また、遺伝子組換え体の選別には、Insert Check Ready (Toyobo#PIK-101)を用いた。さらに、塩基配列の決定には、dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kit (ABI/Perkin Elmer#4303141)を使用し、ABI PRISM 377 DNA Sequencer によって解析をおこなった。それぞれ独立する10クローンの遺伝子組換え体に対し、全インサート断片の塩基配列を決定した結果、全クローンともに単一の塩基配列を示した。

得られた配列が、それぞれGTAR11-1、GTAR11-2、GTAR11-3、GTAR11-4の部

分塩基配列である事を確認し、非特異的なRT-PCR増幅でないことを確認した。

(4) 5'-及び3'-RACE法による完全長cDNAクローニング

(i) 5'-RACE法

GTAR11の全長 cDNA を単離するために、5' RACE-PCRを試みた。GTAR11-1遺伝子、GTAR11-2遺伝子、GTAR11-3遺伝子、およびGTAR11-4遺伝子の増幅のために、一次PCRには、それぞれ11-1-A2、11-2-A1、11-3-A1、11-4-A1を、二次PCRにはそれぞれ11-1-A3、11-2-A2、11-3-A2、11-4-A2をプライマーとして用いた。

鋳型としてHuman Testis Marathon-Ready cDNA Library (Clontech#7414-1) を用い、PCR 実験にはAdvantage cDNA Polymerase Mixを使用した。Perkin Elmer Gene Amp PCR System 2400サーマルサイクラーを使用し、下記のPCR 条件で行った結果、単一のサイズを示すPCR産物が得られた。

一次PCRは、94℃で4分、「94℃で20秒、72℃で2分」を5サイクル、「94℃で20秒、70℃で2分」を5サイクル、「94℃で20秒、68℃で2分」を30サイクル、72℃で4分、および4℃で終結の条件で行った。二次PCRは、94℃で4分、「94℃で20秒、72℃で2分」を5サイクル、「94℃で20秒、68℃で2分」を28サイクル、72℃で4分、および4℃で終結の条件で行った。

得られた5' RACE-PCR 産物は、前記同様、pGEM-T Easy vector にサブクローニングし、独立する6クローンの遺伝子組換え体に対し、全インサート断片の塩基配列を決定した。塩基配列の決定には前記同様、dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kitを使用し、ABI PRISM 377 DNA Sequencer によって解析をおこなった。

(ii) 3'-RACE法

GTAR11の全長 cDNA を単離するために、3' RACE-PCRを試みた。GTAR11-1遺伝子、GTAR11-2遺伝子、GTAR11-3遺伝子、およびGTAR11-4遺伝子の増幅のため

めに、一次PCRには、それぞれ11-1-S1、11-2-S1、11-3-S1、11-4-S1を、二次PCRにはそれぞれ11-1-S2、11-2-S2、11-3-S2、11-4-S2をプライマーとして用いた。

鋳型として5' RACE-PCR同様、Human Testis Marathon-Ready cDNA Libraryを用い、PCR 実験にはAdvantage cDNA Polymerase Mixを使用した。PCR 条件は前記5' RACE-PCR同様の条件で行った結果、単一なサイズを示すPCR産物のバンドが得られた。それぞれの遺伝子に関し、得られたPCR 産物を、前記同様、pGEM-T Easy vectorにサブクローニングし、独立する6クローンの遺伝子組換え体に対し、全インサート断片の塩基配列を決定した。塩基配列の決定は、前記同様、dRhodamine Terminator Cycle Sequencing Kitを使用し、ABI PRISM 377 DNA Sequencer によって解析をおこなった。この結果、それぞれの遺伝子に関し、独立した全6クローンともに単一の塩基配列を示した。この3' RACE-PCRの結果、決定した塩基配列と、前述の5' RACE-PCRの結果により決定した塩基配列とを総合することによって、全長GTAR11 cDNAの塩基配列を決定した。決定したcDNAの塩基配列を、図24 (GTAR11-1)、図25 (GTAR11-2)、図26 (GTAR11-3)、図27 (GTAR11-4)、並びに配列番号：24 (GTAR11-1)、配列番号：25 (GTAR11-2)、配列番号：26 (GTAR11-3)、配列番号：27 (GTAR11-4) に示した。

なお、最初のGTAR11-1に関する3' RACE-PCRでは、得られたGTAR11-1 cDNAは完全長ではなく、C末端側が欠失していた (cDNAの塩基配列を配列番号：32に、該cDNAがコードするペプチドのアミノ酸配列を配列番号：33に示す)。そこで、GTAR11-1について再度3' RACE-PCRを行って、上記のように完全長のGTAR11-1 cDNAを得た。

既知OR遺伝子群のゲノム構造は、それらをコードするゲノム配列の1つのexon配列内に、開始コドンから終始コドンまでのORFを含んでいる特徴を持つ。全長cDNAが単離されたGTAR11-1、GTAR11-2、GTAR11-3、およびGTAR11-4も

同様に、1つのexonと考えられる配列内にORFの全長を認めることができた。

図28に既知のヒトOLF1、OLF2、及びOLF3と、GTAR11-1のアミノ酸配列を比較して記載する。図29に既知のヒトOLF2、及びOLF3と、GTAR11-2のアミノ酸配列を比較して記載する。図30に既知のヒトOLF2、及びOLF3と、GTAR11-3のアミノ酸配列を比較して記載する。図31に既知のヒトOLF2及び、OLF3と、GTAR11-4のアミノ酸配列を比較して記載する。

産業上の利用の可能性

本発明により新規なG蛋白質結合型受容体蛋白質およびその遺伝子が提供された。本発明の受容体蛋白質は、その発現特性などから免疫応答や造血などに関与していることが予想されるため、これら蛋白質を利用して、免疫応答や造血細胞制御のための薬剤を開発するためのスクリーニングを行うことが可能であると考えられる。また、本発明の受容体蛋白質を利用して、免疫応答や造血などに関連して本発明の受容体蛋白質に結合するリガンドのスクリーニングを行うことも可能であると考えられる。

請求の範囲

1. 下記 (a) から (c) のいずれかに記載の G 蛋白質結合型受容体蛋白質。

(a) 配列番号：4、5、6、28、29、30、31 のいずれかに記載のアミノ酸配列からなる蛋白質。

(b) 配列番号：4、5、6、28、29、30、31 のいずれかに記載のアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸の欠失、付加、挿入及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列からなる蛋白質。

(c) 配列番号：1、2、3、24、25、26、27 のいずれかに記載の塩基配列からなる DNA とハイブリダイズする DNA がコードする蛋白質。

2. 請求項 1 に記載の蛋白質と他のペプチド又はポリペプチドとからなる融合蛋白質。

3. 請求項 1 に記載の蛋白質の部分ペプチド。

4. 請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の蛋白質またはペプチドをコードする DNA。

5. 請求項 4 に記載の DNA が挿入されたベクター。

6. 請求項 4 に記載の DNA を発現可能に保持する形質転換体。

7. 請求項 6 に記載の形質転換体を培養し、発現させた蛋白質またはペプチドを回収する工程を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の蛋白質またはペプチドの製造方法。

8. 請求項 1 に記載の蛋白質に結合する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の蛋白質またはペプチドに被験試

料を接触させる工程、および

(b) 請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の蛋白質またはペプチドに結合する活性を有する化合物を選択する工程、を含む方法。

9. 請求項 1 に記載の蛋白質に結合するリガンドおよび／またはアゴニストをスクリーニングする方法であって、

(a) 請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の蛋白質またはペプチドを表面に発現させた細胞に被験試料を接触させる工程、

(b) 該細胞内の生化学的変化を測定する工程、および

(c) 該細胞内の生化学的変化を誘導する化合物を選択する工程、を含む方法。

10. 請求項 1 に記載の蛋白質に結合する抗体。

11. 請求項 10 に記載の抗体と、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の蛋白質またはペプチドが含まれると予想される試料とを接触せしめ、該抗体と該蛋白質またはペプチドとの免疫複合体の生成を検出又は測定することを含んでなる、該蛋白質またはペプチドの検出又は測定方法。

12. 配列番号：1、2、3、24、25、26、27 のいずれかに記載の塩基配列からなる DNA またはその相補鎖とハイブリダイズし、少なくとも 15 塩基の鎖長を有する DNA。

1 / 3 1

☒ 1

OLF1 MEFTD-RNYT -LVTEFILLG FPTRPELOIV LFLMFLTYA ILLIGNIGLM LLIRIDPHLO
 OLF2 M---D---MQS S-TPGFLLLG FSEHPGLGRT LFVDVITSYL LTLVGNTLTI LLSALDTKLN
 OLF3 MG-TD---MOT -WVSEFILLG LSSDWDTRVS LFVLFLVMYV VTVLGNCLIV LLIRLDSRLH
 14-1 M---DSLNOT -RVTEFVFLG LTDNRVLEML FFMAFSAIYM LTLSGNELII IATVPTPSLH
 14-2 MEEAILLNOT SLVTYFRLRG LSVNHKARIA MFSMFLIFYV LTLIGNVLIV ITIIYDHRLH

* * * * *
 OLF1 TPMYFFLSNL SFVDLCYFSD IVPKMLVNFL SENKSISYVG CALQYFFCT FADTESFLA
 OLF2 SPMYFFLSNL SFLDLCFTTS CVPOMLANLW GPKKTISELD CSVOIEIFLS LGTTECIAMK
 OLF3 TPMYFFLTRL SLVDVSYATS VVPOLLAHFL AEHKAIPFQS CAAOLFFSLA LGGIEFVLLA
 14-1 TPMYFFLSNL SFIDICHSSV TVPKMLEGLL LERKTISPDN CITQLFFLHL FACAEIFLLI
 14-2 TPMYFFLSNL SFIDVCHSTV TVPKMLRDVW SEEKLISFDA CVTOMFFLHL FACTEIFILT

***** * * * *
 OLF1 AMAYDRYVAI CNPLLYTVVM SRGICMRLIV LSYLGGMSS LVHTSPAFIL KYCDKNVINH
 OLF2 VMAFDRYVAV CQPLHYATII HPRLCWQLAS VAWVIGLVGS VVQTPSTLHL PFCPDROVDD
 OLF3 VMAYDRYVAV CDALRYSAIM HGGLCARLAI TSWVSGFISS PVQTAITFQL PMCRNKPIDH
 14-1 IVAYDRYVAI CTPLHYPNVM NMRVCIQLVF ALWLGGTVHS LGQTFLTIRL PYEGPNIIDS
 14-2 VMAYDRYVAI CKPLOVMIV NWKVCVLLAV ALWTGGTIHS IALTSITIKL PYCGPDEIDN

** ***** * * * *
 OLF1 FFCDEPPLLK LSCTDTTINE WLLSTYGSSV EIICFIIIII SYFFILLSVL KIRSFSGRKK
 OLF2 FVCEVPALIR LSCEDTSYNE IQVAVASVFI LVVPLSLILV SYGAIWAVL RINSATAWRK
 OLF3 ISCELLAVVR LACVDTSSNE VTIMVSSIVL LMTPLCLVLL SYIQIISTIL KIQSREGRKK
 14-1 YFCDVPLVIK LACTDTYLTG ILIVTNSGTI SLSCFLAVVT SIMVIL-VSL RKHSAEGROK
 14-2 FFCDVPPQVIK LACIDTPTSL ILIVSNSGLI SVVCFVVLV SYAVIL-VSL RQOISKGKWK

* * * * *
 OLF1 TFSTCASHLT SVTIYQGTLL FIYSRPSYLY SPNTDKIISV FYTIFIPVLN PLIYSLRNKD
 OLF2 AFGTCSSHLT VVTLFYSSVI AVYLOPKNPY AQGRGKFFGL FYAVGTPSLN PLVYTLRNKE
 OLF3 AFHTCASHLT VVALCYGVAI FTYIQPHSSP SVLQEKLEFSV FYAILTPMLN PMIYSLRNKE
 14-1 ALSTCSAHFM VVALFFGPCI FIYTRPDTSF SI--DKVSV FYTVVTPLLN PFIYTLRNEE
 14-2 ALSTCAAHLT VVTLFLGHCI FIYSRPSTSL PE--DKAVSV FFTAVTPLLN PIIYTLRNEE

* * * * *
 OLF1 VKDAAEKVLR SKVDS---S
 OLF2 IKHALRRLG KERDSRESWR AA
 OLF3 VKGAWQKLLW KFSG-LTSKL AT
 14-1 VKSAMKQLRQ RQVF-FT-KS YT
 14-2 MKSALNKLVG RK-E-R--KE EK

* *

2 / 3 1

☒ 2

OLF1	MEFTD-RNYT	LVTEFILLGF	PTRPELOIVL	FLMFLTLYAI	ILIGNIGLME	LIRIDPHLO-
OLF2	M---D--MQS	STPGFLLLGF	SEHPGLGRTL	FVDVITSYLL	TLVGNTLIIL	LSALDTKLH-
OLF3	MG-TD--NOT	WVSEFILLGL	SSDWDTRVSL	FVLFLVMYVV	TVLGNCLIVL	LIRLDSRLH-
14-3	ME-RI--NST	LLTAFILTGI	PYPLRLRTL	FVFFFLIYIL	TOLGNLLILI	TVWADPRLHA
	*	*	*	*	*	*
OLF1	TPMYFFLSNL	SFV DLCYFSD	IVPKMLVNFL	SENKSISYYG	CALQFYFFCT	FADTESFILA
OLF2	SPMYFFLSNL	SFLDLCFTTS	CVPQMLANLW	GPKKTISFLD	CSVOIFIFLS	LGTTECILMK
OLF3	TPMYFFLTNL	SLVDVSYATS	VVPQLLAHFL	AEHKAIPFQS	CAAQLFFSLA	LGGTEFVELA
14-3	RPMYIFLGVL	SVIDMSISSI	IVPRIMMFT	LGVKPIPFEG	CVAQLYFYHF	LGSTOCFLYT
	***	***	*	*	*	*
OLF1	AMAYDRYVAI	CNPLLYTVVM	SRGICMLIV	LSYLGGNMSS	LVHTSFAFIL	KYCDKNVINH
OLF2	VMAFDRIYAV	COPLHYATII	HPRLCQWLAS	VAWVIGLVGS	VVQTPSTLHL	PFCPDROVDD
OLF3	VMAYDRYVAV	CDALRYSAIM	HGGLCARLAI	TSWVSGFISS	PVQTAITFQL	PMCRNKFIDH
14-3	LMAYDRYLAI	COPLRYPVLM	TAKLSALLVA	GAWMAGSIHG	ALQAILTFRL	PYCGPNQVDY
	***	***	*	*	*	*
OLF1	FFCDLPPLLK	LSCTDTTINE	WLLSTYGSSV	EIICFIIIII	SYFFILLSVL	KIRSFSGRKK
OLF2	FVCEVPALIR	LSCEDTSYNE	IQVAVASVFI	LVVPLSLILV	SYGAIWAVL	RINSATAWRK
OLF3	ISCELLAVVR	LACVDTSSNE	VTIMVSSIVL	LMTPLCLVLL	SYIQIISTIL	KIQSREGRKK
14-3	FFCDIPAVLR	LACADTTVNE	LVTFVDIGVV	VASCFSLILL	SYIQIIQAIL	RIHTADGRRR
	*	***	*	*	*	*
OLF1	TFSTCASHLT	SVTIYOGTLL	FIYSRPSYLY	SPNTDKIISV	FYTIFIPVLN	PLIYSLRNKD
OLF2	AFGTCSSHLT	VVTLFYSSVI	AVYLOPKNPY	AQGRGKFFGL	FYAVGTPSLN	PLVYTLRNKE
OLF3	AFHTCASHLT	VVALCYGVAI	FTYIQPHSSP	SVLQEKLFVS	FYAILTPMLN	PMIYSLRNKE
14-3	AFSTCGAHVT	VVTVYVPCA	FIYLRPETNS	PLD-GAAALV	PTAI-TPELN	PLIYTLRNOE
	***	*	*	*	*	*
OLF1	VKDAAEKVL-	-RSKVDSS				
OLF2	IKRALRRLLG	KERDSRESWR	AA			
OLF3	VKGAWQKLLW	KFBGL-TSKL	AT			
14-3	VKLAL-KRM-	LRSPTPSEV				
	*	*	*			

3 / 3 1

☒ 3

OLF1	MEFTD-RNYT	-LVTEFILLG	FPTRPELOIV	LFLMFLTLYA	IILIGNIGLM	LLIRIDPHLO
OLF2	M---DMQS--	S-TPGFLLIG	FSEHPGLGRT	LFVDVITSYL	DTLVGNTLII	LLSALDTKLH
OLF3	MG-TDMQT--	-WVSEFILLG	LSSDWDTRVS	LFVLFLVMYV	VTVLGNCLIV	LLIRLDSRLH
14-4	MGKTKNTSLD	TVVRDFILLG	LSHPPNIRSL	LFLVFFVIYI	LTOLGNLLIL	LTWADPKLR
14-5	MGKTKNTSLD	AVVTDFILLG	LSHPPNLRSL	LFLVFFIYI	LTOLGNLLIL	LTWADPKLC
	*	*		**	*	** * *
OLF1	T-PMYFFLSN	LSFVDLCYFS	DIVPKMLVNE	LSENKSISYY	GCAOFYFFC	TFADTESFIL
OLF2	S-PMYFFLSN	LSFLDLCFTT	SCVPOMLANL	WGPKKTISFL	DCSVQIFIFL	SIGTTECHM
OLF3	T-PMYFFLTN	LSLVDSYAT	SVVPOLIAHF	LAEHKAIPFO	SCAAOLFFSL	ALGGIEFVLL
14-4	ARPMYILLGV	LSFLDMWLSS	VIVP*ILLNF	TPANKAIPFG	GCVAQLYFFH	FLGSTOCFLY
14-5	ARPMYILLGV	LSFLDMWLSS	VTVPRLILDF	TPSIKAIPFG	GCVAQLYFFH	FLGSTOCFLY
	***	*	**	*	*	*
OLF1	AAMAYDRIYA	ICNPLLYTVV	MSRGICMRI	VLSYLGGMNS	SLVHTSFAFI	LKYCDKNVIN
OLF2	KVMAFDRIYA	VCQPLHYATI	IHPRLCWOLA	SVANVIGLVG	SVVQTPSTLH	LPFCPDRQVD
OLF3	AVMAYDRIYA	VCDALRYSAI	MHGGLCARLA	ITSWVSGFIS	SPVQTAITFO	LPMCRNKFID
14-4	TLMAYDRIYA	ICOPLRYPVL	MNGRLCTVLV	AGAWVAGSMH	GSIQATLTFR	LPYCGPNQVD
14-5	TLMAYDRIYA	ICOPLHYPVL	MNGRLCTVLV	AGAWVAGSMH	GSIQATLTFR	LPYCGPNQVD
	**	***	*	*	*	*
OLF1	HFFCDLPPIL	KLSCDTTIN	EWLLSTYGSS	VEIICFIIII	ISYFFILLSV	LKIRSFSGRK
OLF2	DFVCEVPALI	RLSCEDTSYN	EIQVAVASVF	ILVVPLSLIL	VSYGAIWAV	LRINSATAMR
OLF3	HISCELLAVV	RLACVDTSN	EVTIMVSSIV	LLMTPCLVL	LSYIQIISTI	LKIQSREGRK
14-4	YFICDIPAVL	RLACADTTVN	ELVTFVDIGV	VAASCEMLIL	LSYANIVNAI	LKIRTTDGRR
14-5	YFICDIRAVL	RLACADTTVN	ELVTFVDVRV	VAASCEMLIL	LSYANIVHAI	LKIRTADGRR
	*	*	*	*	*	*
OLF1	KTFSTCASHL	TSVTIYQGT	LFIYSRPSYL	YSPNTDKIIS	VFYTFIPVL	NPLIYSLRNM
OLF2	KAFGTCSHL	TVVTLFYSSV	IAYVLOPKNP	YAQGRGKFFG	LFYAVGTFSL	NPLVYTLRNM
OLF3	KAFHTCASHL	TVVALCYGVA	LFTYIOPHSS	PSVLOEKLFS	VFYAILTPEL	NPMIYSLRNM
14-4	RAFSTCGSHL	IVTVYVPC	IFIYLRAGSK	G-PLDG-AAA	VFYTVVTPIL	NPLIYTLRNM
14-5	RAFSTCGSHL	IVTVYVPC	IFIYLRAGSK	D-PLDG-AAA	VFYTVVTPIL	NPLIYTLRNM
	*	*	*	*	*	*
OLF1	DVKDAAEKVLR	SKVDS--S				
OLF2	EIKRALRRLLG	KERDSRESWR	AA			
OLF3	EVKGAWQKLLW	KFSG-LTSKL	AT			
14-4	EVKSAL-KRI-	-TAGQTE				
14-5	EVKSAL-KRI-	-TAG				

4 / 3 1

☒ 4

1 ATGGACAGTC TAAACCAAAC AAGAGTGACT GAATTTGTCT TCTTGGGACT
51 CACTGATAAC CGGGTGCTGG AAATGCTGTT TTTCATGGCA TTCTCAGCCA
101 TTTATATGCT AACGCTTTCA GGAACATTC TCATCATCAT TGCCACAGTC
151 TTTACTCCAA GTCTCCATAC CCCCATGTAT TTCTTCCTGA GCAATCTGTC
201 CTTTATTGAC ATCTGCCACT CATCTGTCAC TGTGCCTAAG ATGTTGGAGG
251 GTTTGCTTTT AGAAAGAAAG ACCATTTCTT TTGACAACTG CATCACACAG
301 CTCTTCTTCC TACATCTCTT TGCCTGTGCC GAGATCTTTC TGCTGATCAT
351 TGTGGCGTAT GATCGTTACG TGGCTATCTG CACTCCACTC CACTACCCCA
401 ATGTGATGAA CATGAGAGTC TGTATACAGC TTGTCTTTGC TCTCTGGTTG
451 GGGGGTACTG TTCACTCACT AGGGCAGACC TTCTTGACTA TTCGTCTACC
501 TTACTGTGGC CCCAACATTA TTGACAGCTA CTTCTGTGAT GTGCCTCTTG
551 TTATCAAGCT GGCCTGCACA GATACATACC TCACAGGAAT ACTGATTGTG
601 ACCAATAGTG GAACCATCTC CCTCTCCTGT TTCTTGGCCG TGGTCACCTC
651 CTATATGGTC ATCCTGGTTT CTCTTCGAAA AACTCAGCT GAAGGGCGCC
701 AGAAAGCCCT GTCTACCTGC TCGGCCCACT TCATGGTGGT TGCCCTCTTC
751 TTTGGGCCAT GTATCTTCAT CTATACTCGG CCAGACACCA GCTTCTCCAT
801 TGACAAGGTG GTGTCTGTCT TCTACACAGT GGTCACCCCT TTGCTGAATC
851 CCTTCATTTA CACCTTGAGG AATGAGGAGG TAAAAAGTGC CATGAAGCAG
901 CTCAGGCAGA GACAAGTTTT TTTCACGAAA TCATATACAT AA

←

5 / 3 1

☒ 5


1 ATGGAAAGAA TCAACAGCAC ACTGTTGACT GCGTTTATCC TGACAGGAAT
51 TCCGTATCCA CTCAGGCTAA GGACACTCTT TTTTGTGTTC TTTTTTCTAA
101 TCTACATCCT GACTCAGCTG GGAAACCTGC TTATTTTAAT CACTGTCTGG
151 GCAGACCCAA GGCTCCATGC CCGCCCCATG TACATCTTTC TTGGTGTCT
201 CTCAGTCATT GATATGAGCA TCTCCTCCAT CATTGTCCCT CGCCTCATGA
251 TGAAC TTCAC TTTAGGTGTC AAACCCATCC CATTTGGTGG CTGTGTTGCT
301 CAACTCTATT TCTATCACTT CCTGGGCAGC ACCCAGTGCT TCCTETACAC
351 CCTAATGGCC TATGACAGGT ACCTGGCAAT ATGTCAGCCC CTGCGCTACC
401 CTGTGCTCAT GACTGCTAAG CTGAGCGCCT TGCTTGTGGC TGGAGCCTGG
451 ATGGCAGGAT CCATCCATGG GGCTCTCCAG GCCATCCTAA CCTTCCGCCT
501 GCCCTACTGT GGGCCCAATC AGGTGGATTA CTTCTTCTGT GACATCCCTG
551 CAGTGTTGAG ACTGGCCTGT GCTGACACAA CAGTCAACGA GCTGGTGACG
601 TTTGTAGACA TTGGGGTGGT GGTGCGCAGT TGCTTCTCCC TGATCCTCCT
651 CTCCTACATA CAGATCATT AGGCCATCCT GAGAATCCAC ACAGCTGATG
701 GGCGGCGCCG GGCTTTTTCA ACTTGTGGAG CCCATGTAAC CGTGGTCACC
751 GTGTACTATG TGCCCTGTGC CTTCATCTAC CTGAGGCCTG AAACCAACAG
801 CCCCTGGAT GGGGCAGCTG CCCTAGTCCC CACGGCCATC ACTCCTTTCC
851 TCAACCCCT TATCTACACT CTGCGGAACC AAGAGGTGAA GCTGGCCCTG
901 AAAAGAATGC TCAGAAGCCC AAGAACTCCG AGTGAGGTTT GA

←

6 / 3 1

☒ 6

1 ATGGGAAAGA CCAAAAACAC ATCGCTGGAT GCCGTGGTGA CAGATTTTCAT
51 TCTTCTGGGT TTGTCTCACC CCCCAAATCT AAGAAGCCTC CTCTTCCTGG
101 TCTTCTTCAT CATTTACATC CTCACTCAGC TGGGGAACCT GCTCATTCTG
151 CTCACCATGT GGGCTGACCC GAAGCTCTGT GCTCGCCCCA TGTACATTCT
201 TCTGGGAGTG CTCTCATTCC TGGACATGTG GCTCTCCTCA GTCACCGTTC
251 CTCGGCTTAT TTTGGATTTT ACTCCTTCCA TCAAGGCTAT CCCGTTTGGT
301 GGCTGTGTGG CTCAACTGTA TTTCTTTTAC TTCCTGGGCA GCACCCAGTG
351 CTTCTCTAC ACCTTGATGG CCTATGACAG GTACCTAGCA ATATGTCAGC
401 CCCTGCACTA CCCAGTGCTC ATGAATGGGA GGTATGCAC AGTCCTTGTG
451 GCTGGAGCTT GGGTCGCCGG CTCCATGCAT GGGTCTATCC AGGCCACCTT
501 GACCTTCCGC CTGCCCTACT GTGGGCCCAA TCAGGTGGAT TACTTTATCT
551 GTGACATCCG CGCAGTATTG AGACTGGCCT GTGCTGACAC AACTGTCAAT
601 GAGCTTGTGA CCTTTGTGGA CGTCAGGGTA GTGGCCGCCA GTTGCTTCAT
651 GTTAATTCTG CTCTCCTATG CCAACATAGT CCATGCCATC CTGAAGATAC
701 GCACCGCTGA TGGGAGGCGC CGGGCCTTCT CCACCTGTGG CTCCCACCTA
751 ATCGTGGTCA CAGTCTACTA TGTCCCCTGT ATTTTCATCT ACCTTAGGGC
801 TGGCTCCAAA GACCCCCTGG ATGGGGCAGC GGCTGTGTTT TACACTGTTG
851 TCACTCCATT ACTGAACCCC CTCATCTATA CACTGAGGAA CCAGGAAGTG
901 AAGTCTGCCC TGAAGAGGAT AACAGCAGGT TGA

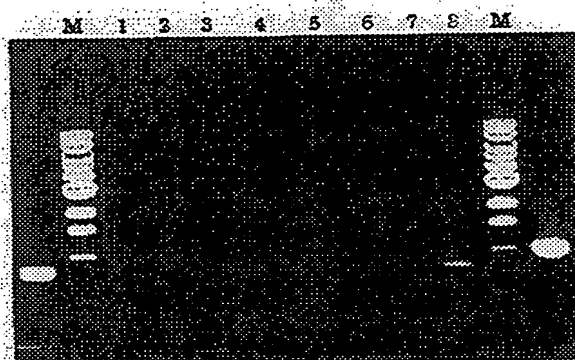


The diagram shows a DNA sequence with a start codon (ATG) at position 1, indicated by a right-pointing arrow. A stop codon (TGA) is at position 901, indicated by a left-pointing arrow. The sequence is presented in 10-line blocks, with line numbers 1, 51, 101, 151, 201, 251, 301, 351, 401, 451, 501, 551, 601, 651, 701, 751, 801, 851, and 901 on the left. The sequence is underlined from position 1 to 30 (ATCGCTGGAT).

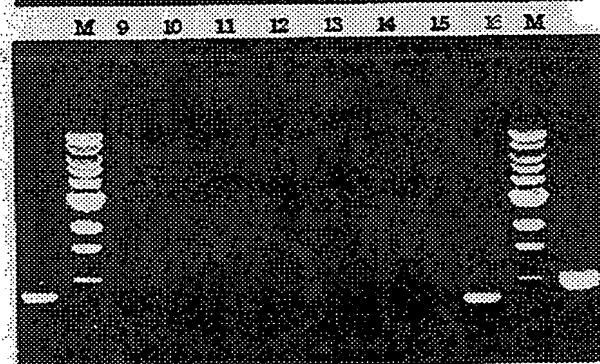
7/31

☒ 7

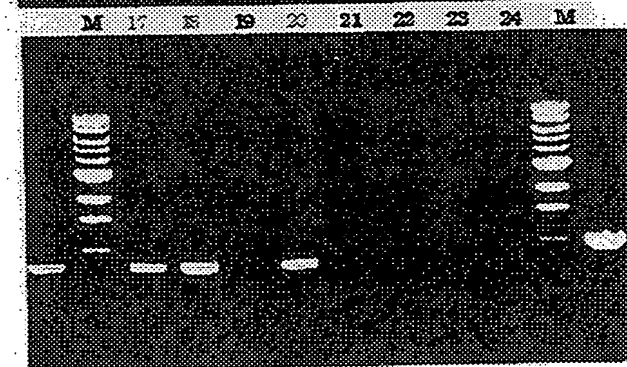
[A]



[B]

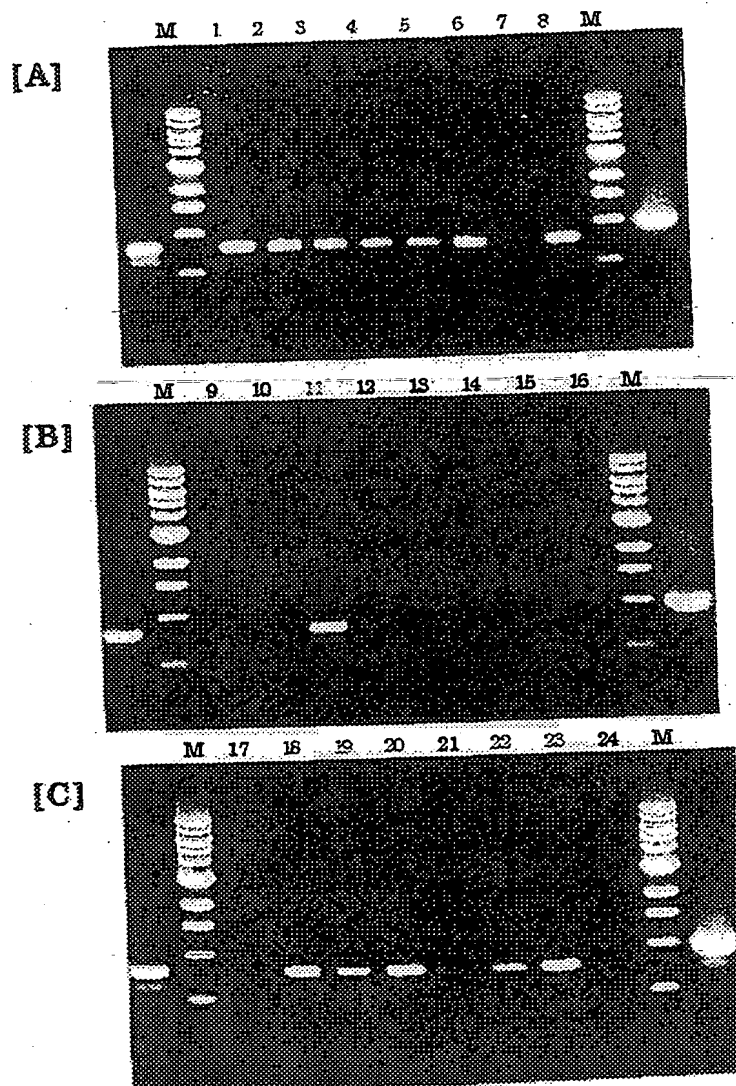


[C]



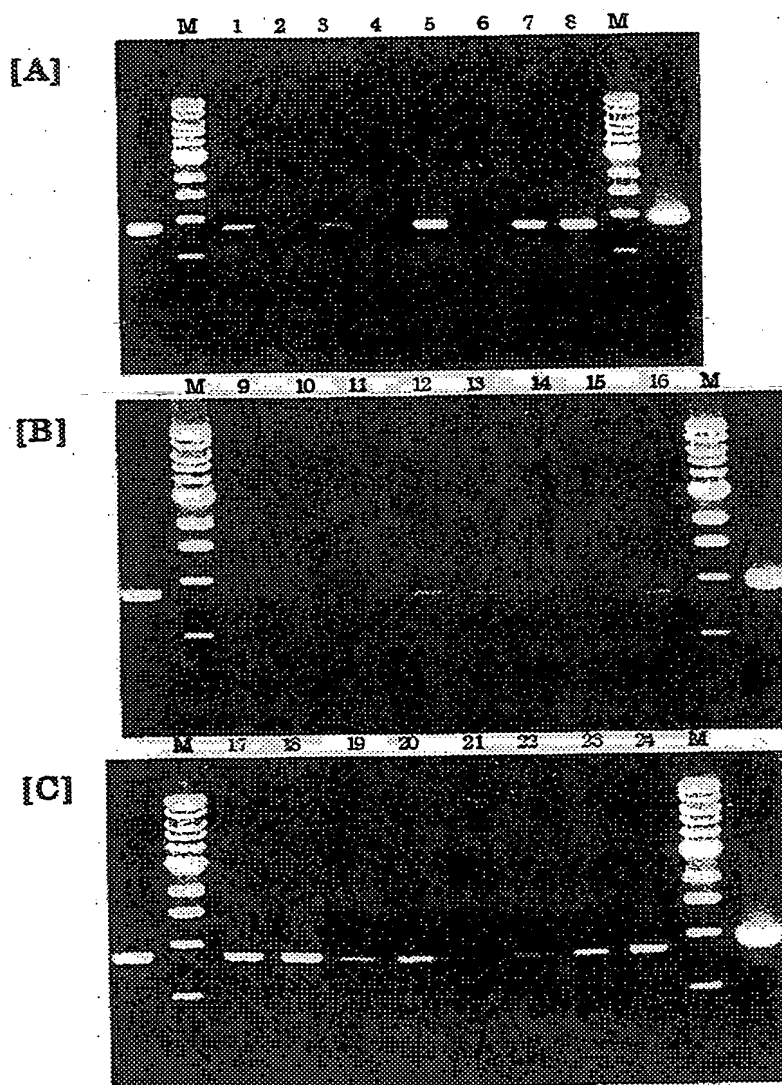
8/31

8



9/31

図 9



10/31

☒ 10

1 CTCATTGAATGGACAGTCTAAACCAACAAGAGTGACTGAATTTGTCTTCTTGGGACTCA
MetAspSerLeuAsnGlnThrArgValThrGluPheValPheLeuGlyLeuThr

61 CTGATAACCGGGTGCTGGAAATGCTGTTTTTCATGGCATTCTCAGCCATTTATATGCTAA
AspAsnArgValLeuGluMetLeuPhePheMetAlaPheSerAlaIleTyrMetLeuThr
TM-I

121 CGCTTTTCAGGGAACATTCTCATCATCATTGCCACAGTCTTTACTCCAAGTCTCCATACCC
LeuSerGlyAsnIleLeuIleIleIleAlaThrValPheThrProSerLeuHisThrPro

181 CCATGTATTTCTTCCTGAGCAATCTGTCCTTTATTGACATCTGCCACTCATCTGTCACTG
MetTyrPhePheLeuSerAsnLeuSerPheIleAspIleCysHisSerSerValThrVal
TM-II

241 TGCCTAAGATGTTGGAGGGTTTGCTTTTAGAAAGAAAGACCATTTCTTTGACAACTGCA
ProLysMetLeuGluGlyLeuLeuLeuGluArgLysThrIleSerPheAspAsnCysIle

301 TCACACAGCTCTTCTTCCTACATCTCTTTGCCTGTGCCGAGATCTTTCTGCTGATCATTG
ThrGlnLeuPhePheLeuHisLeuPheAlaCysAlaGluIlePheLeuLeuIleIleVal
TM-III

361 TGGCGTATGATCGTTACGTGGCTATCTGCACTCCACTCCACTACCCCAATGTGATGAACA
AlaTyrAspArgTyrValAlaIleCysThrProLeuHisTyrProAsnValMetAsnMet

421 TGAGAGTCTGTATACAGCTTGCTTTGCTCTCTGGTTGGGGGGTACTGTTCACTCACTAG
ArgValCysIleGlnLeuValPheAlaLeuTrpLeuGlyGlyThrValHisSerLeuGly
TM-IV

481 GGCAGACCTTCTTGACTATTCTGCTACCTTACTGTGGCCCCAACATTATTGACAGCTACT
GlnThrPheLeuThrIleArgLeuProTyrCysGlyProAsnIleIleAspSerTyrPhe

541 TCTGTGATGTGCCTCTTGTTATCAAGCTGGCCTGCACAGATACATACCTCACAGGAATAC
CysAspValProLeuValIleLysLeuAlaCysThrAspThrTyrLeuThrGlyIleLeu

601 TGATTGTGACCAATAGTGAACCATCTCCCTCTCCTGTTTCTTGGCCGTGGTCACCTCCT
IleValThrAsnSerGlyThrIleSerLeuSerCysPheLeuAlaValValThrSerTyr
TM-V

661 ATATGGTCATCCTGGTTTCTCTTCGAAAACACTCAGCTGAAGGGCGCCAGAAAGCCCTGT
MetValIleLeuValSerLeuArgLysHisSerAlaGluGlyArgGlnLysAlaLeuSer

11 / 31

☒ 11

721 CTACCTGCTCGGCCCACTTCATGGTGGTTGCCCTCTTCTTTGGGCCATGTATCTTCATCT
ThrCysSerAlaHisPheMetValValAlaLeuPhePheGlyProCysIlePheIleTyr

TM-VI

781 ATACTCGGCCAGACACCAGCTTCTCCATTGACAAGGTGGTGTCTGTCTTCTACACAGTGG
ThrArgProAspThrSerPheSerIleAspLysValValSerValPheTyrThrValVal

841 TCACCCCTTTGCTGAATCCCTTCATTTACACCTTGAGGAATGAGGAGGTAAAAAGTGCCA
ThrProLeuLeuAsnProPheIleTyrThrLeuArgAsnGluGluValLysSerAlaMet

TM-VII

901 TGAAGCAGCTCAGGCAGAGACAAGTTTTTTTACGAAATCATATACATAATGGGCATTGG
LysGlnLeuArgGlnArgGlnValPhePheThrLysSerTyrThr***

961 GATTGCAGACATAATTGCAGCCACATCCTTAATGAAAGAGCAAAAGTAAAGAGTCAAAAT

1021 CAACTTATATAACTTGGTAAATTAGGTAAAATGGCATAGAGCAGGTCAGATTTCTGCTCA

1081 TTAAAGATAAGAACTTATTCTGTTTCAATAAAGATAAGAACTTATTAAGTATTATTTAAAT

1141 AAA

1 2 / 3 1

☒ 1 2

1 ATTCTCTGGGATATGGAAAGAATCAACAGCACACTGTTGACTGCGTTTATCCTGACAGGA
MetGluArgIleAsnSerThrLeuLeuThrAlaPheIleLeuThrGly

61 ATTCCGTATCCACTCAGGCTAAGGACACTCTTTTTTGTGTTCTTTTTTCTAATCTACATC
IleProTyrProLeuArgLeuArgThrLeuPhePheValPhePhePheLeuIleTyrIle

121 CTGACTCAGCTGGGAAACCTGCTTATTTTAATCACTGTCTGGGCAGACCCAAGGCTCCAT
LeuThrGlnLeuGlyAsnLeuLeuIleLeuIleThrValTrpAlaAspProArgLeuHis
TM-I

181 GCCGGCCCATGTACATCTTTCTTGCTCTCTCTCAGTCATTGATATGAGCATCTCCTCC
AlaArgProMetTyrIlePheLeuGlyValLeuSerValIleAspMetSerIleSerSer
TM-II

241 ATCATTGTCCCTCGCCTCATGATGAACTTCACTTTAGGTGTCAAACCCATCCCATTTGGT
IleIleValProArgLeuMetMetAsnPheThrLeuGlyValLysProIleProPheGly

301 GGCTGTGTTGCTCAACTCTATTTCTATCACTTCCTGGGCAGCACCCAGTGCTTCCTCTAC
GlyCysValAlaGlnLeuTyrPheTyrHisPheLeuGlySerThrGlnCysPheLeuTyr
TM-III

361 ACCCTAATGGCCTATGACAGGTACCTGGCAATATGTCAGCCCCTGCGTACCCTGTGCTC
ThrLeuMetAlaTyrAspArgTyrLeuAlaIleCysGlnProLeuArgTyrProValLeu

421 ATGACTGCTAAGCTGAGCGCCTTGCTTGTGGCTGGAGCCTGGATGGCAGGATCCATCCAT
MetThrAlaLysLeuSerAlaLeuLeuValAlaGlyAlaTrpMetAlaGlySerIleHis
TM-IV

481 GGGGCTCTCCAGGCCATCCTAACCTTCCGCCTGCCCTACTGTGGGCCCAATCAGGTGGAT
GlyAlaLeuGlnAlaIleLeuThrPheArgLeuProTyrCysGlyProAsnGlnValAsp

541 TACTTCTTCTGTGACATCCCTGCAGTGTTGAGACTGGCCTGTGCTGACACAACAGTCAAC
TyrPhePheCysAspIleProAlaValLeuArgLeuAlaCysAlaAspThrThrValAsn

601 GAGCTGGTGACGTTTGTAGACATTGGGGTGGTGGTTGCCAGTTGCTTCTCCCTGATCCTC
GluLeuValThrPheValAspIleGlyValValValAlaSerCysPheSerLeuIleLeu
TM-V

661 CTCTCCTACATACAGATCATTGAGGCCATCCTGAGAATCCACACAGCTGATGGGCGGCGC
LeuSerTyrIleGlnIleIleGlnAlaIleLeuArgIleHisThrAlaAspGlyArgArg

13 / 31

☒ 13

721 CGGGCTTTTTCAACTTGTGGAGCCCATGTAACCGTGGTCACCGTGACTATGTGCCCTGT
ArgAlaPheSerThrCysGlyAlaHisValThrValValThrValTyrTyrValProCys

TM-VI

781 GCCTTCATCTACCTGAGGCCTGAAACCAACAGCCCCCTGGATGGGGCAGCTGCCCTAGTC
AlaPheIleTyrLeuArgProGluThrAsnSerProLeuAspGlyAlaAlaAlaLeuVal

841 CCCACGGCCATCACTCCTTTCCTCAACCCCTTATCTACACTCTGCGGAACCAAGAGGTG
ProThrAlaIleThrProPheLeuAsnProLeuIleTyrThrLeuArgAsnGlnGluVal

TM-VII

901 AAGCTGGCCCTGAAAAGAATGCTCAGAAGCCCAAGAACTCCGAGTGAGGTTTGAAAGTGT
LysLeuAlaLeuLysArgMetLeuArgSerProArgThrProSerGluVal***

961 CTTTCTCCCACTAGGGAAGCTGCCACAATTAGAATTTATTATAATGTTTAGGCTTCGGTA

1021 ACTTTTTTCTTTTCTTCTGTTTTTCTCTTTTATATAGCCATACTGTATGATCAAACAC

1081 AGTTTAAGGTAAAATACTAACTTTCTAACAGTTCCTTAGTATCCTCTCAAGATAACTCTC

1141 AGCCACTGCAAGAGTAGAGAATGAGACCAAATTCACAAACTAAACCACATTAAACAAT

1201 CCAGAAGAAAGAATGCAATAGTGTATTTTCCAATGTCTCAGTAATAAA

14 / 31

[X] 14

1 GGCAACCTAAAAGCAAGCATGGACAGTTCCTTGGTGAATAACCAAAAACAAGATGGAGTC
61 TCGCTCTGTTGCCAGGCTGGAGTGTAGTGGCGCCATCTCGGCTCGCTGCGGTCTCCGCC
121 TCCCGGGTTCAGGCGATTCTCCGGCCTCAGCCTCCCGGGTGCCTGGGATTGCAGGAAC
181 GAACTAAAGCGAGGTTAATTTCCACAGTGAGAACATGCTCCAGACATCCGAGCACCAGTG
241 TGGCTCTGGAACTCCACAGATACCACAGGACTAGAAAATAACTGGACAATGGGATGTT
301 TATCTTGCCCGAACTGAGGGATATAAAAAGCTCCAAAGACAAAGAAAGTACCATCCACCC
361 ATCCCAAAGAAATTATCCTTCCTTCTGAAAATAAGACTGCAAAAAGACATGGGAAAGAC
MetGlyLysThr
421 GAAAAACACATCGCTGGATGCCGTGGTGACAGATTTTATTCTTCTGGGTTTGTCTCACCC
LysAsnThrSerLeuAspAlaValValThrAspPheIleLeuLeuGlyLeuSerHisPro
481 CCCAAATCTAAGAAGCCTCCTCTTCTGGTCTTCTTCATCATTTACATCCTCACTCAGCT
ProAsnLeuArgSerLeuLeuPheLeuValPhePheIleIleTyrIleLeuThrGlnLeu
TM-I
541 GGGGAACCTGCTCATTCTGCTCACCATGTGGGCTGACCCGAAGCTCTGTGCTCGCCCCAT
GlyAsnLeuLeuIleLeuLeuThrMetTrpAlaAspProLysLeuCysAlaArgProMet
601 GTACATTCTTCTGGGAGTGCTCTCATTCTGGACATGTGGCTCTCCTCAGTCACCGTTCC
TyrIleLeuLeuGlyValLeuSerPheLeuAspMetTrpLeuSerSerValThrValPro
TM-II
661 TCGGCTTATTTTGGATTTTACTCCTTCCATCAAGGCTATCCCGTTTGGTGGCTGTGTGGC
ArgLeuIleLeuAspPheThrProSerIleLysAlaIleProPheGlyGlyCysValAla
721 TCAACTGTATTTCTTCACTTCTGGGCAGCAGCCAGTGCTTCTCTACACCTTGATGGC
GlnLeuTyrPhePheHisPheLeuGlySerThrGlnCysPheLeuTyrThrLeuMetAla
TM-III
781 CTATGACAGGTACCTAGCAATATGTCAGCCCCTGCACTACCCAGTGCTCATGAATGGGAG
TyrAspArgTyrLeuAlaIleCysGlnProLeuHisTyrProValLeuMetAsnGlyArg
841 GTTATGCACAGTCCTTGTGGCTGGAGCTTGGGTGCGCGGCTCCATGCATGGGTCTATCCA
LeuCysThrValLeuValAlaGlyAlaTrpValAlaGlySerMetHisGlySerIleGln
TM-IV
901 GGCCACCTTGACCTTCGCCTGCCCTACTGTGGGCCCAATCAGGTGGATTACTTTATCTG
AlaThrLeuThrPheArgLeuProTyrCysGlyProAsnGlnValAspTyrPheIleCys

15 / 31

☒ 15

961 TGACATCCGCGCAGTATTGAGACTGGCCTGTGCTGACACAACGTCAATGAGCTTGTGAC
AspIleArgAlaValLeuArgLeuAlaCysAlaAspThrThrValAsnGluLeuValThr

1021 CTTTGTGGACGTCAGGGTAGTGGCCGCCAGTTGCTTCATGTTAATTCTGCTCTCCTATGC
PheValAspValArgValValAlaAlaSerCysPheMetLeuIleLeuLeuSerTyrAla

TM-V

1081 CAACATAGTCCATGCCATCCTGAAGATACGCACCGCTGATGGGAGGCGCCGGGCCTTCTC
AsnIleValHisAlaIleLeuLysIleArgThrAlaAspGlyArgArgArgAlaPheSer

1141 CACCTGTGGCTCCACCTAATCGTGGTCACAGTCTACTATGTCCCCTGTATTTTCATCTA
ThrCysGlySerHisLeuIleValValThrValTyrTyrValProCysIlePheIleTyr

TM-VI

1201 CCTTAGGGCTGGCTCCAAAGACCCCCTGGATGGGGCAGCGGCTGTGTTTTACACTGTTGT
LeuArgAlaGlySerLysAspProLeuAspGlyAlaAlaAlaValPheTyrThrValVal

1261 CACTCCATTACTGAACCCCTCATCTATACACTGAGGAACCAGGAAGTGAAGTCTGCCCT
ThrProLeuLeuAsnProLeuIleTyrThrLeuArgAsnGlnGluValLysSerAlaLeu

TM-VII

1321 GAAGAGGATAACAGCAGGTTGAAGGACTGAATGAAAATAAGTAACTACATCTGCATCATT
LysArgIleThrAlaGly***

1381 ATCACTGCCACTCTCTTCAGCTACTGCTGCATGTGACAAATGCCCAATAAA

16 / 31

☒ 16

1 CAGCAGCTTGTCCTTCGTCGATTTCTGCTATTCCTCTGTCATTACTCCCA
51 AAATGCTGGTGAAC TTCCTAGGAAAGAAGAATACAATCCTTTACTCTGAG
101 TGCATGGTCCAGCTCTTTTCTTTGTGGTCTTTGTGGTGGCTGAGGGTTA
151 CCTCCTGACTGCCATGGCATATGATCGCTATGTTGCCATCTGTAGCCAC
201 TGCTTTATAATGCGATCATGTCCTCATGGGTCTGCTCACTGCTAGTGCTG
251 GCTGCCTTCTTCTTGGGCTTTCTCTCTGCCTTGACTCATAACAAGTGCCAT
301 GATGAAACTGTCCTTTTGCAAATGCCACATTATCAACCATTACTTCTGTG
351 ATGTTCTTCCCCTCCTCAATCTCTCCTGCTCCAACACACACCTCAATGAG
401 CTTCTACTTTTATCATTCGCGGGTTTAACACCTTGGTGCCCACCCTAGC

17 / 31

☒ 17

1 CATGGTAGGCAACCTTGGCTTGATCACTCTTTTCGGTCTAAATTCTCACC
51 TCCACACACCAATGTACTATTTCTCTTCAATCTCTCCTTCATTGATCTC
101 TGTTACTCCTCTGTTTTCACTCCCAAATGCTAATGAACTTTGTGTCAAA
151 AAAGAATATTATCTCCAATGTTGGGTGCATGACTCGGCTGTTTTCTTTC
201 TCTTTTTTCGTCATCTCTGAATGTTACATGTTGACCTCAATGGCATATGAT
251 CGCTATGTGGCCATCTGTAATCCATTGCTGTATAAGGTCACCATGTCCCA
301 TCAGGTCTGTTCTATGCTCACTTTTGCTGCTTACATAATGGGATTGGCTG
351 GAGCCACGGCCCACACCGGGTGCATGTTTAGACTCACCTTCTGCAGTGCT
401 AATATCATTAAACCATTACTTGTGTGACATACTCCCCCTCCTCCAGCTTTC
451 CTGCACCAGCACCTATGTCAACGAGGTGGTTGTTCTCATTGTTGTGGGTA
501 CTAATATCACGGTACCCAGTTGTACCATCCTCATTTCTTATGTTTTTCATT
551 GTCACTAGCATTCCTTCATATCAAATCCACTCAAGGAAGATCAAAAGCCTT
601 CAGTACTTGTAGCTCTCATGTCAATTGCTCTGTCTCTG

18 / 31

☒ 18

1 CATGGTAGGCAACCTTGGCTTGATCATTCTTTTCGGTCTAAATTCTCACC
51 TCCACACACCAATGTACTATTTCCCTTTCAATCTCTCCTTCATTGATCTC
101 TGTTACTCCTCTGTTTTCACTCCCAAAATGCTAATGAACTTTGTATCAAA
151 AAAGAATATTATCTCCTATGTTGGGTGCATGACTCAGCTGTTTTCTTTC
201 TCTTTTTTGTGTCATCTCTGAATGCTACATATTGACCTCAATGGCATATGAT
251 CGCTATGTGGCCATCTGTAATCCATTGCTGTATAAGGTCACCATGTCCCA
301 TCAGGTCTGTTCTATGCTCACTTTTGCTGCTTACATAATGGGATTGGCTG
351 GAGCCACGGCCACACCGGGTGCATGCTTAGACTCACCTTCTGCAGTGCT
401 AATATCATCAACCATTACTTGTGTGACATACTCCCCCTCCTCCAGCTTTC
451 CTGCACCAGCACCTATGTCAACGAGGTGGTTGTTCTCATTGTTGTGGGTA
501 TTAATATCATGGTACCCAGTTGTACCATCCTCATTTCCTTATGTTTTATT
551 GTCACTAGCATTCTTCATATCAAATCCACTCAAGGAAGATCAAAGCCTT
601 CAGTACTTGTAGCTCTCATGTCATTGCTCTGTCTCTG

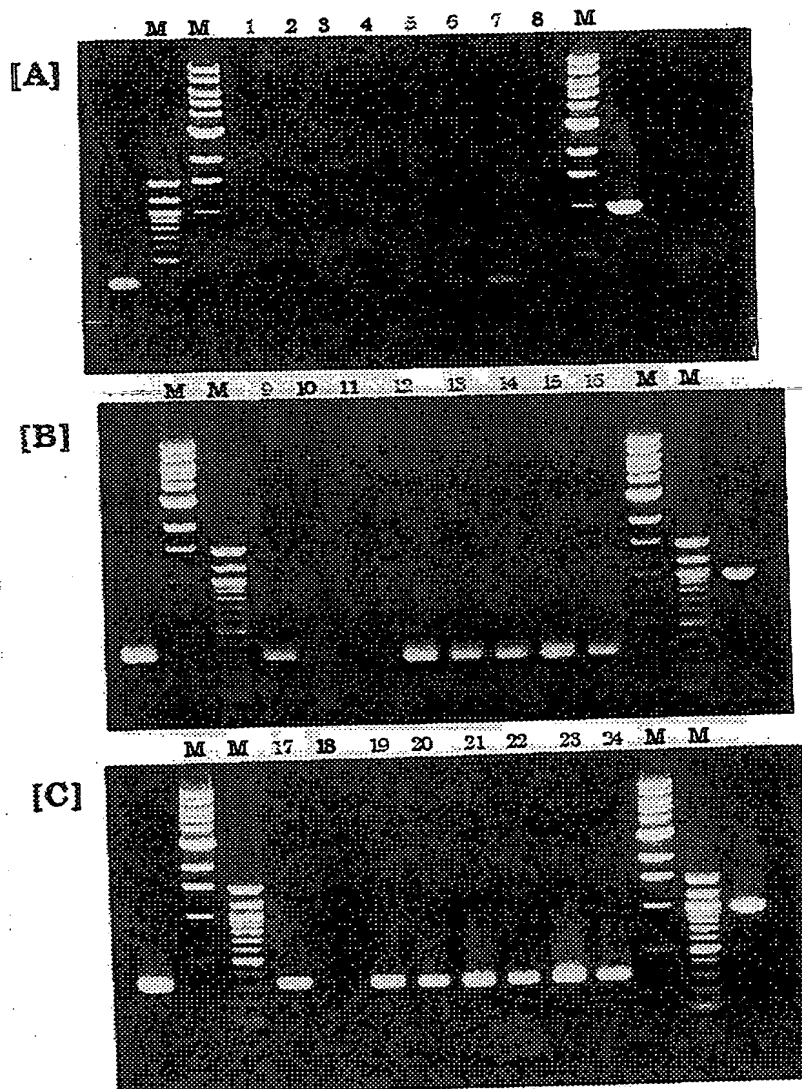
19 / 31

☒ 19

1 CCTTTATAGATCTCTGTTATTCCTGTGTGTTTACCCCCAAAATGCTGAAT
51 GACTTTGTTTCAGAAAGTATCATCTCTTATGTGGGATGTATGACTCAGCT
101 ATTTTCTTCTGTTTCTTTGTCAATTCTGAGTGCTATGTGTTGGTATCAA
151 TGGCCTATGATCGCTATGTGGCCATCTGCAACCCCCTGCTCTACATGGTC
201 ACCATGTCCCCAAGGGTCTGCTTTCCTGCTGATGTTTGGTTCCTATGTGGT
251 AGGGTTTGCTGGGGCCATGGCCACACTGGAAGCATGCTGCGACTGACCT
301 TCTGTGATTCCAACGTCATTGACCATTATCTGTGTGACGTTCTCCCCCTC
351 TTGCAGCTCTCCTGCACCAGCACCCATGTCAGTGAGCTGGTATTTTTCAT
401 TGTGTGTTGGAGTAATCACCATGCTATCCAGCATAAGCATCGTCATCTCTT
451 ACGCTTTGATACTCTCCAACATCCTCTGTATTCTTCTGCAGAGGGCAGA
501 TCCAAAGCC

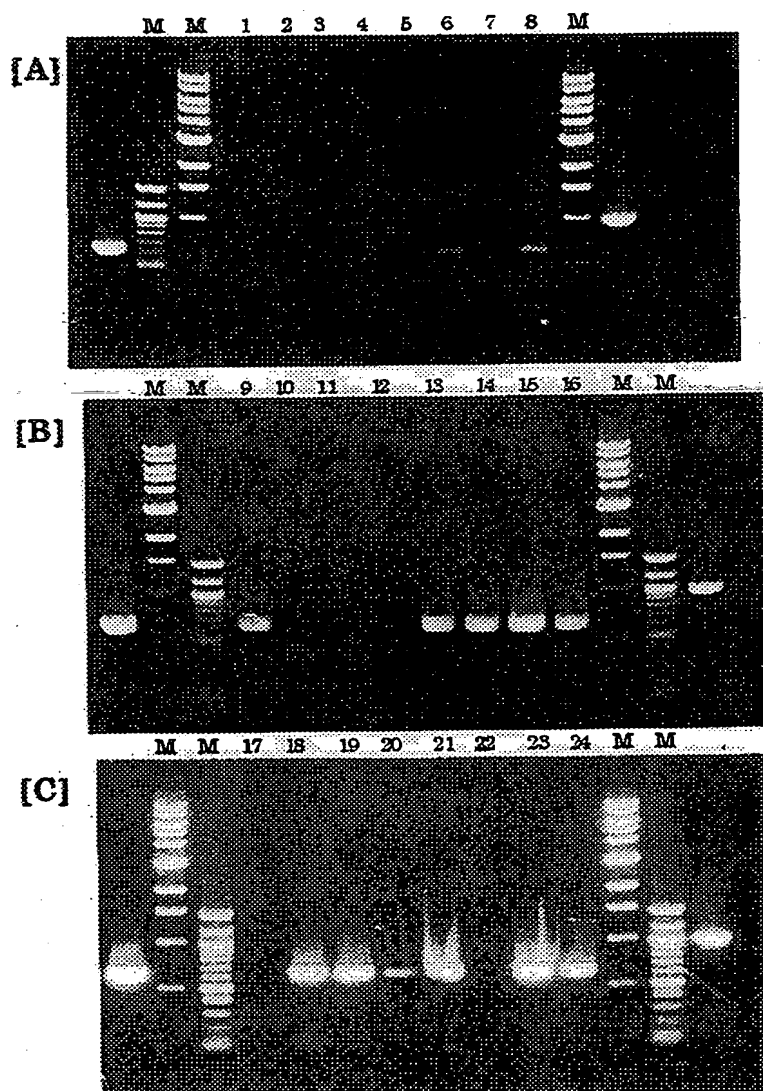
20/31

20



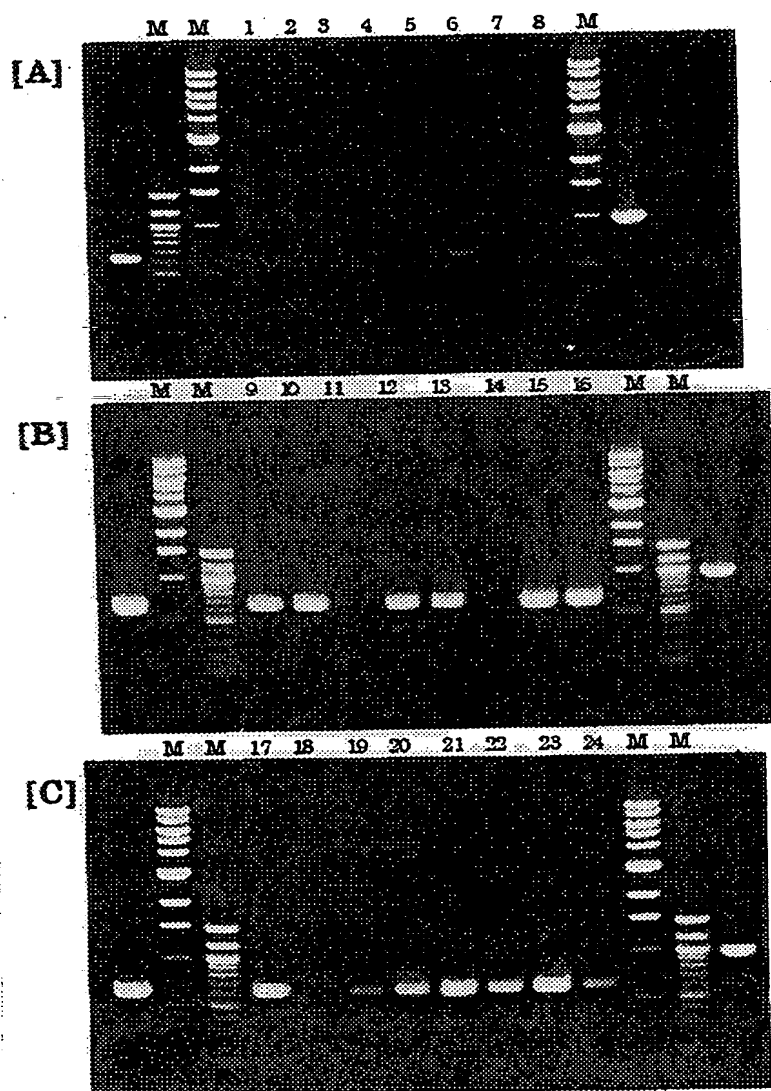
21/31

図 21



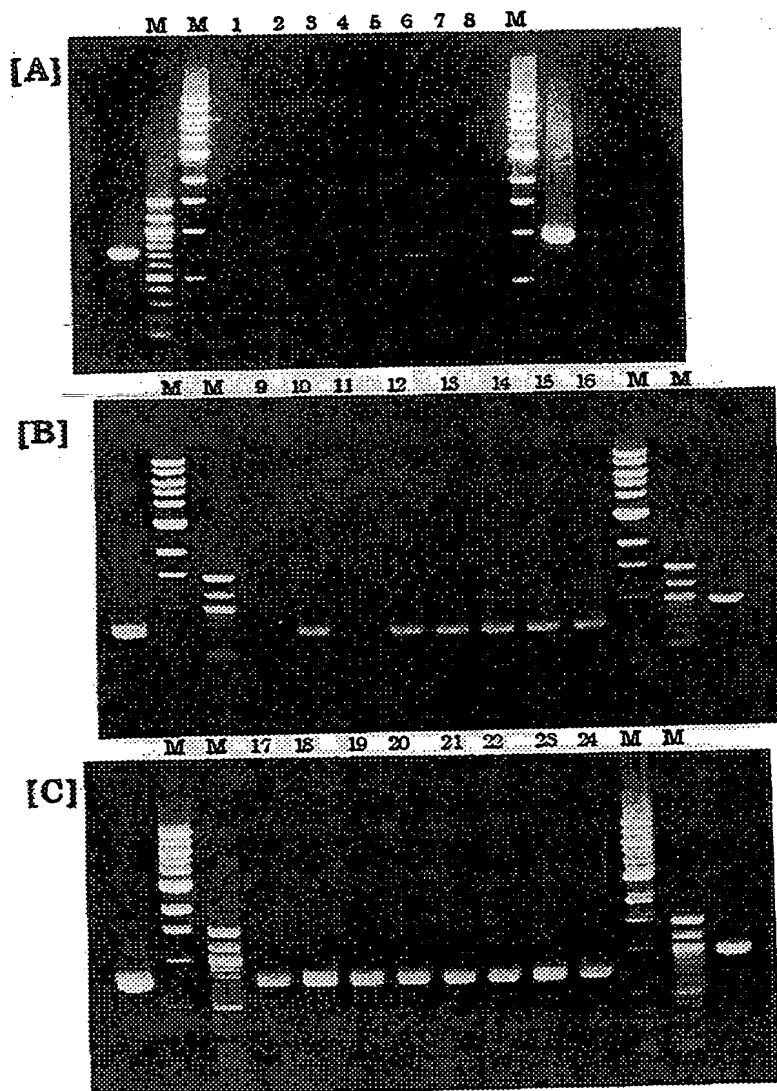
22/31

図 22



23/31

23



24 / 31

24

1

AAATGCCTAAAGAAGAATGACCATGGAAAATTATTCTATGGCAGCTCAGTTTGTCTTAGA
MetThrMetGluAsnTyrSerMetAlaAlaGlnPheValLeuAsp

61 TGGTTTAACACAGCAAGCAGAGCTCCAGCTGCCCCCTCTCCTCCTGTTCTGGGAATCTA
GlyLeuThrGlnGlnAlaGluLeuGlnLeuProLeuPheLeuLeuPheLeuGlyIleTyr

121 TGTGGTCACAGTAGTGGGCAACCTGGGCATGATTCTCCTGATTGCAGTCAGCCCTCTACT
ValValThrValValGlyAsnLeuGlyMetIleLeuLeuIleAlaValSerProLeuLeu

TM-I

181 TCACACCCCATGTACTATTTCTCAGCAGCTTGTCTTCGTCGATTTCTGCTATTCCTC
HisThrProMetTyrTyrPheLeuSerSerLeuSerPheValAspPheCysTyrSerSer

TM-II

241 TGTCATTACTCCCAAATGCTGGTGAACCTCCTAGGAAAGAAGAATACAATCCTTTACTC
ValIleThrProLysMetLeuValAsnPheLeuGlyLysLysAsnThrIleLeuTyrSer

301 TGAGTGCATGGTCCAGCTCTTTTCTTTGTGGTCTTTGTGGTGGCTGAGGGTTACCTCCT
GluCysMetValGlnLeuPhePhePheValValPheValValAlaGluGlyTyrLeuLeu

TM-III

361 GACTGCCATGGCATATGATCGCTATGTTGCCATCTGTAGCCCACTGCTTTATAATGCGAT
ThrAlaMetAlaTyrAspArgTyrValAlaIleCysSerProLeuLeuTyrAsnAlaIle

421 CATGTCCTCATGGGTCTGCTCACTGCTAGTGCTGGCTGCCTTCTTCTTGGGCTTTCTCTC
MetSerSerTrpValCysSerLeuLeuValLeuAlaAlaPhePheLeuGlyPheLeuSer

TM-IV

481 TGCCTTGACTCATACAAGTGCCATGATGAACTGTCTTTTGCAAATCCACATTATCAA
AlaLeuThrHisThrSerAlaMetMetLysLeuSerPheCysLysSerHisIleIleAsn

541 CCATTACTTCTGTGATGTTCTTCCCTCCTCAATCTCTCCTGCTCCAACACACACCTCAA
HisTyrPheCysAspValLeuProLeuLeuAsnLeuSerCysSerAsnThrHisLeuAsn

601 TGAGCTTCTACTTTTATCATTGCGGGTTTAACACCTTGGTGCCACCCTAGCTGTTGC
GluLeuLeuLeuPheIleIleAlaGlyPheAsnThrLeuValProThrLeuAlaValAla

TM-V

661 TGTCTCCTATGCCTTCATCCTCTACAGCATCCTTCACATCCGCTCCTCAGAGGGCCGGTC
ValSerTyrAlaPheIleLeuTyrSerIleLeuHisIleArgSerSerGluGlyArgSer

721 CAAAGCTTTTGAACATGCAGCTCTCATCTCATGGCTGTGGTGATCTTCTTTGGGTCCAT
LysAlaPheGlyThrCysSerSerHisLeuMetAlaValValIlePhePheGlySerIle

TM-VI

781 TACCTTCATGTATTTCAAGCCCCCTTCAAGTAACTCCCTGGACCAGGAGAAGGTGTCTC
ThrPheMetTyrPheLysProProSerSerAsnSerLeuAspGlnGluLysValSerSer

841 TGTGTTCTACACCACGGTGATCCCCATGCTGAACCTTTAATATACAGTCTGTAATCACA
ValPheTyrThrThrValIleProMetLeuAsnProLeuIleTyrSerLeu***

TM-VII

901 GCACCTTGGAAGGCTGAGGCAGGGTTGCTTGAGTCCAGTTTGAGACCATCCTGGGGAACA

961 TAGTGCGATCTTGTTTCTTTCCACTGCCTAAAACTCAATGCTCAATTTTACTTGCAAT

1021 TTCCTCTCCTGACATGGAGAATGTTGGCTTGAATGTTC

25 / 31

25

1 ATTTTGAAGACAAAAAATGCTGGCTAGAAACAACTCCTTAGTGACTGAATTTATTCTTG
MetLeuAlaArgAsnAsnSerLeuValThrGluPheIleLeuAla

61 CTGGATTAACAGATCGTCCAGAGTTCTGGCAACCCTTCTTTTCTGTTCTTAGTGATCT
GlyLeuThrAspArgProGluPheTrpGlnProPhePhePheLeuPheLeuValIleTyr

121 ACATTGTCACCATGGTAGGCAACCTTGGCTTGATCACTCTTTTCGGTCTAAATTCTCACC
IleValThrMetValGlyAsnLeuGlyLeuIleThrLeuPheGlyLeuAsnSerHisLeu
TM-I

181 TCCACACACCAATGTACTATTTCTCTTCAATCTCTCCTTCATTGATCTCTGTTACTCCT
HisThrProMetTyrTyrPheLeuPheAsnLeuSerPheIleAspLeuCysTyrSerSer
TM-II

241 CTGTTTTCACTCCCAAATGCTAATGAACTTTGTGTCAAAAAGAATATTATCTCCAATG
ValPheThrProLysMetLeuMetAsnPheValSerLysLysAsnIleIleSerAsnVal

301 TTGGGTGCATGACTCGGCTGTTTTCTTCTCTTTTCGTCATCTCTGAATGTTACATGT
GlyCysMetThrArgLeuPhePhePheLeuPhePheValIleSerGluCysTyrMetLeu
TM-III

361 TGACCTCAATGGCATATGATCGCTATGTGGCCATCTGTAATCCATTGCTGTATAAGGTCA
ThrSerMetAlaTyrAspArgTyrValAlaIleCysAsnProLeuLeuTyrLysValThr

421 CCATGTCCCATCAGGTCTGTTCTATGCTCACTTTTGTGCTTACATAATGGGATTGGCTG
MetSerHisGlnValCysSerMetLeuThrPheAlaAlaTyrIleMetGlyLeuAlaGly
TM-IV

481 GAGCCACGGCCACACCGGGTGCATGTTTAGACTCACCTTCTGCAGTGCTAATATCATT
AlaThrAlaHisThrGlyCysMetPheArgLeuThrPheCysSerAlaAsnIleIleAsn

541 ACCATTACTTGTGTGACATACTCCCCCTCCTCCAGCTTTCCTGCACCAGCACCTATGTCA
HisTyrLeuCysAspIleLeuProLeuLeuGlnLeuSerCysThrSerThrTyrValAsn

601 ACGAGGTGGTTGTTCTCATTGTTGTGGGTACTAATATCACGGTACCCAGTTGTACCATCC
GluValValValLeuIleValValGlyThrAsnIleThrValProSerCysThrIleLeu
TM-V

661 TCATTTCTTATGTTTTTCATTGTCACTAGCATTCTTCATATCAAATCCACTCAAGGAAGAT
IleSerTyrValPheIleValThrSerIleLeuHisIleLysSerThrGlnGlyArgSer

721 CAAAAGCCTTCAGTACTTGTAGCTCTCATGTCATTGCTCTGTCTCTGTTTTTGGGTGAG
LysAlaPheSerThrCysSerSerHisValIleAlaLeuSerLeuPhePheGlySerAla
TM-VI

781 CGGCATTCATGTATATTAAATATTCTTCTGGATCTATGGAGCAGGAAAAGTTTTTCTG
AlaPheMetTyrIleLysTyrSerSerGlySerMetGluGlnGlyLysValPheSerVal

841 TTTTCTACACTAATGTGGTGCCCATGCTCAATCCCTCATCTACAGTTTGAGGAACAAGG
PheTyrThrAsnValValProMetLeuAsnProLeuIleTyrSerLeuArgAsnLysAsp
TM-VII

901 ATGTCAAAGTTGCACTGAGGAAAGCTCTGATTAAAAATTCAGAGGAGAAATATATTCTAAT
ValLysValAlaLeuArgLysAlaLeuIleLysIleGlnArgArgAsnIlePhe***

961 TAGAAGCAGTAATGATGTAAACAATTGAAGGACTTCAAATTTTTATTAGTGTTTTTTCAT

1021 GAAGAGATTTTGTGTTTCTACAGATGGTGTATGTGTGATTTAATAAA

26 / 31

26

1 ATTTTGAAGACAAAAAATGCTGGCTAGAAACAACTCCTTAGTGACTGAATTTATCTTG
MetLeuAlaArgAsnAsnSerLeuValThrGluPheIleLeuAla

61 CTGGATTAACAGATCGTCCAGAGTCCGGCAACCCCTCTTTTCTGTTTCTAGTGATCT
GlyLeuThrAspArgProGluPheArgGlnProLeuPhePheLeuPheLeuValIleTyr

121 ACATTGTCACCATGGTAGGCAACCTTGGCTTGATCATTCTTTTCGGTCTAAATTCTCACC
IleValThrMetValGlyAsnLeuGlyLeuIleIleLeuPheGlyLeuAsnSerHisLeu

TM-I

181 TCCACACACCAATGTACTATTTCTCTTCAATCTCTCCTTCATTGATCTCTGTTACTCCT
HisThrProMetTyrTyrPheLeuPheAsnLeuSerPheIleAspLeuCysTyrSerSer

TM-II

241 CTGTTTCACTCCCAAATGCTAATGAACTTTGTATCAAAAAGAATATTATCTCCTATG
ValPheThrProLysMetLeuMetAsnPheValSerLysLysAsnIleIleSerTyrVal

301 TTGGGTGCATGACTCAGCTGTTTTCTTCTCTTTTTGTGTCATCTCTGAATGCTACATAT
GlyCysMetThrGlnLeuPhePhePheLeuPhePheValIleSerGluCysTyrIleLeu

TM-III

361 TGACCTCAATGGCATATGATCGCTATGTGGCCATCTGTAATCCATTGCTGTATAAGGTCA
ThrSerMetAlaTyrAspArgTyrValAlaIleCysAsnProLeuLeuTyrLysValThr

421 CCATGTCCCATCAGGTCTGTTCTATGCTCACTTTTGCTGCTTACATAATGGGATTGGCTG
MetSerHisGlnValCysSerMetLeuThrPheAlaAlaTyrIleMetGlyLeuAlaGly

TM-IV

481 GAGCCACGGCCACACCGGGTGCATGCTTAGACTCACCTTCTGCAGTGCTAATATCATCA
AlaThrAlaHisThrGlyCysMetLeuArgLeuThrPheCysSerAlaAsnIleIleAsn

541 ACCATTACTGTGTGACATACTCCCCCTCCTCCAGCTTTCCTGCACCAGCACCTATGTCA
HisTyrLeuCysAspIleLeuProLeuLeuGlnLeuSerCysThrSerThrTyrValAsn

601 ACGAGGTGGTGTCTCATTGTTGTGGGTATTAATATCATGGTACCCAGTTGTACCATCC
GluValValValLeuIleValValGlyIleAsnIleMetValProSerCysThrIleLeu

TM-V

661 TCATTTCTTATGTTTTCAATTGTCACCTAGCATTCTTCATATCAAATCCACTCAAGGAAGAT
IleSerTyrValPheIleValThrSerIleLeuHisIleLysSerThrGlnGlyArgSer

721 CAAAAGCCTTCAGTACTTGTAGCTCTCATGTGCTGCTGCTCTGTTTTTGGGTGAG
LysAlaPheSerThrCysSerSerHisValIleAlaLeuSerLeuPhePheGlySerAla

TM-VI

781 CGGCATTGATGATATTTAAATATCTTCTGGATCTATGGAGCAGGAAAAGTTTCTTCTG
AlaPheMetTyrIleLysTyrSerSerGlySerMetGluGlnGlyLysValSerSerVal

841 TTTTCTACACTAATGTGGTGCCCATGCTCAATCCTCTCATCTACAGTTTGAGGAACAAGG
PheTyrThrAsnValValProMetLeuAsnProLeuIleTyrSerLeuArgAsnLysAsp

TM-VII

901 ATGTCAAAGTTGCACTGAGGAAAGCTCTGATTAAAATTCAGAGAAGAAATATATTCTAAT
ValLysValAlaLeuArgLysAlaLeuIleLysIleGlnArgArgAsnIlePhe***

961 TAGAAGCAGTAATAATGTAAACGATTGAAGAACTTTAAATTTTATTAGTGTGTCCAT

1021 GAAGAGATTTTGTGTTTCTACAGATGGTGTATGTGTGATTTAATAAA

27 / 31

27

1 ACAGCTCGCCAAGAGAGAATGACTCTGAGAAACAGCTCCTCAGTGACTGAGTTTATCCTT
MetThrLeuArgAsnSerSerSerValThrGluPheIleLeu

61 GTGGGATTATCAGAACAGCCAGAGCTCCAGCTCCCTCTTTTCTTCTATTCTTAGGGATC
ValGlyLeuSerGluGlnProGluLeuGlnLeuProLeuPheLeuLeuPheLeuGlyIle

121 TATGTGTTCACTGTGGTGGGCAACTTGGGCTTGATCACCTTAATTGGGATAAATCCTAGC
TyrValPheThrValValGlyAsnLeuGlyLeuIleThrLeuIleGlyIleAsnProSer

TM-I

181 CTTACACCCCCATGTACTTTTCTCTTCAACTTGTCTTTATAGATCTCTGTTATTCC
LeuHisThrProMetTyrPhePheLeuPheAsnLeuSerPheIleAspLeuCysTyrSer

TM-II

241 TGTGTGTTTACCCCCAAATGCTGAATGACTTTGTTTCAGAAAGTATCATCTCTTATGTG
CysValPheThrProLysMetLeuAsnAspPheValSerGluSerIleIleSerTyrVal

301 GGATGTATGACTCAGCTATTTTCTTCTGTTTCTTGTCAATTCTGAGTGCTATGTGTG
GlyCysMetThrGlnLeuPhePhePheCysPhePheValAsnSerGluCysTyrValLeu

TM-III

361 GTATCAATGGCCTATGATCGCTATGTGGCCATCTGCAACCCCTGCTCTACATGGTCACC
ValSerMetAlaTyrAspArgTyrValAlaIleCysAsnProLeuLeuTyrMetValThr

421 ATGTCCCAAGGGTCTGCTTTCTGCTGATGTTTGGTTCCTATGTGGTAGGGTTTCTGCGG
MetSerProArgValCysPheLeuLeuMetPheGlySerTyrValValGlyPheAlaGly

TM-IV

481 GCCATGGCCACACTGGAAGCATGCTGCGACTGACCTTCTGTGATTCCAACGTCATTGAC
AlaMetAlaHisThrGlySerMetLeuArgLeuThrPheCysAspSerAsnValIleAsp

541 CATTATCTGTGTGACGTTCTCCCCCTCTTGCAGCTCTCCTGCACCAGCACCCATGTCAGT
HisTyrLeuCysAspValLeuProLeuLeuGlnLeuSerCysThrSerThrHisValSer

601 GAGCTGGTATTTTTCATTGTTGTTGGAGTAATCACCATGCTATCCAGCATAAGCATCGTC
GluLeuValPhePheIleValValGlyValIleThrMetLeuSerSerIleSerIleVal

TM-V

661 ATCTCTTACGCTTTGATACTCTCCAACATCCTCTGTATTCTTCTGAGAGGGCAGATCC
IleSerTyrAlaLeuIleLeuSerAsnIleLeuCysIleProSerAlaGluGlyArgSer

721 AAAGCCTTTAGCACATGGGGCTCCACATAATTGCTGTTGCTCTGTTTTTGGGTCAAGG
LysAlaPheSerThrTrpGlySerHisIleIleAlaValAlaLeuPhePheGlySerGly

TM-VI

781 ACATTACCTACTTAACAACATCTTTTCTGGCTCTATGAACCATGGCAGATTGCTCA
ThrPheThrTyrLeuThrThrSerPheProGlySerMetAsnHisGlyArgPheAlaSer

841 GTCTTTTACACCAATGTGGTCCCATGCTTAACCTTCGATCTACAGTTTGAGGAATAAG
ValPheTyrThrAsnValValProMetLeuAsnProSerIleTyrSerLeuArgAsnLys

TM-VII

901 GATGATAAACTTGCCCTGGGCAAAACCTGAAGAGAGTGCTCTTCTAATGGGTCTCTTCA
AspAspLysLeuAlaLeuGlyLysThrLeuLysArgValLeuPhe***

961 TATCACTGGCAACCGA

28 / 31

28

OLF1 MEFTD-RMYT -LVTEFILLG FPTRPELOIV LFLMFLTLYA IILIGNIGLM LI RIDPHLO
 OLF2 M---D---MQS S-TPGFLLLG FSEHPGLGRT LFVDVITSYL LTLVGNTLII LI ALDTKLH
 OLF3 MG-TD---MQT -WVSEFILLG LSSDWDTRVS LPVLFLVMYV VTVLGNCLIV LI RLDSRLH
 11-1 M--TME-MYS M-AAQFVLDG LTQQAELQLP LFLFLGIYV VTVVGNLGM I LI AVSPLLH
 * * * * *
 OLF1 TPMYFPLSNL SPVDLCYFSD IVPKMLVNEL SENKSISYYG CALQFYFECT FADTESFILA
 OLF2 SPMYFPLSNL SFIDLCPPTS CVPOMLANLW GPKKTISFLD CSVQIFIFLS LGTTECILMK
 OLF3 TPMYFPLTNL SLVDVSYATS VVPQLLAHEL AEHKATPFQS CAAQLFFSLA LGGIEFVLLA
 11-1 TPMYFPLSSL SPVDFCYSSV ITPKMLVNEL GKKNTILYSE CMVQLFFV FVVAEGYLLT
 * * * * *
 OLF1 AMAYDRYVAI CNPLLYTVVM SRGICMRLIV LSYLGGNMSS LVHTSFAPIL KYCDKNVINH
 OLF2 VMAYDRYVAV COPLHYATII HPRLCWQLAS VAWVIGLVGS VVQTPSTLHL PFCPDROVDD
 OLF3 VMAYDRYVAV CDALRYSAIM HGGCLCARLAI TSWVSGFISS PVQTAITFOL PMCRNKFIDH
 11-1 AMAYDRYVAI CSPLLYNAM SSWVCSLLVL AAFFLGFLSA LHTTSAMMKL SPCKSHIINH
 * * * * *
 OLF1 FFCDLPLLLK LSCDTTINE WLLSTYGSSV EIICFIIIII SYFFILLSVL KIRSFSGRKK
 OLF2 FVCEVPALIR LSCEDTSYNE IQVAVASVFI LVVPLSLILV SYGAIWAVL RINSATAWRK
 OLF3 ISCELLAVVR LACVDTSNE VTIMVSSIVL LMTPLCLVLL SYIQIISTIL KIOSREGRKK
 11-1 YFCVPLPLN LSCSNTHLNE LLLFIIAGFN TLVPTLAVAV SYAFILYSIL HIRSEGRSK
 * * * * *
 OLF1 TFSTCASHLT SVTIYQGTLL FIYSRPSYLY SPNTDKIISV FYTIFIPVLN PLIYSLRNKD
 OLF2 AFGTCSSHLT VVTLFYSSVI AVYLOPKNPY AQGRGKFFGL FYAVGTPLN PLVYTLRNKE
 OLF3 APHTCASHLT VVALCYGVAI FTYIOPHSSP SVLQEKLFVS FYAILTPMLN PMIYSLRNKE
 11-1 AFGTCSSHLM AVVIFFGSIT FMYFKPPSSN SLDQEKVSSV FYTTVIPMLN PLIYSL----
 * * * * *
 OLF1 VKDAAEKVLR SKVDS--S
 OLF2 IKRALRRLLG KERDSRESWR AA
 OLF3 VKGAWQKLW KFSG-LTSKL AT
 11-1 -----

29 / 31

☒ 29

OLF2 M---DNQ SSTPGFLLG FSEHPGLGRT LFVDVITSYL LTLVGNTLII LLSALDTKLH
 OLF3 MGT-DNQ TWVSEFILLG LSSDWDTRVS LFVLFLVMYV VTLGNCLIV LLIRLDSRLH
 11-2 MLAR-NN SLVTEFILAG LTRPEFWQP FFFLFLVIYI VTMVGNLGLI TLFGLNSHLH
 * * * * *
 OLF2 SPMYFFLSNL SFLDLCFTTS CVPQMLANLW GPKKTISFLD CSVQIFIFLS LGTTECILMK
 OLF3 TPMYFFLTNL SLVDVSYATS VVPQLLAHFL AEHKAIPFQS CAAQLFFSLA LGGIEFVLLA
 11-2 TPMYYFLFNL SFIDLCYSSV FTPKMLMNFV SKKNIISNVG CMTRLFFFLF FVISECYMLT
 *** ** * * * * *
 OLF2 VMAFDRYVAV CQPLHYATII HPRLCWQLAS VAWVIGLVGS VVQTPSTLHL PFCPDRQVDD
 OLF3 VMAYDRYVAV CDALRYSAIM HGGLCARLAI TSWVSGFISS PVQTAITFQL PMCRNKFIDH
 11-2 SMAYDRYVAI CNPLLYKVTH SHQVCSMLTF AAYIMLAGA TAHTGCMFRL TFCSANIINH
 ** ***** * * * * *
 OLF2 FVCEVPALIR LSCEDTSYNE IQVAVASVFI LVVPLSLILV SYGAITWAVL RINSATAWRK
 OLF3 ISCELLAVVR LACVDTSSE VTIMVSSIVL LMTPLCLVLL SYIQIISTIL KIQSREGRKK
 11-2 YLCDILPLLQ LSCTSTYVNE VVVLIVVGTN ITVPSTILI SYVFIVTSIL HIKSTQGRSK
 * * * * *
 OLF2 AFGTCSSHLT VVTLFYSSVI AVYLQPKNPY AQGRGKFFGL FYAVGTPSLN PLVYTLRNKE
 OLF3 AFHTCASHLT VVALCYGVAI FTYIQPHSSP SVLQEKLSV FYAILTPMLN PMIYSLRNKE
 11-2 AFSTCSSHVI ALSLFPGSAA FMYIKY-SSG SMEQGKVFSV FYTNVVPMLN PLIYSLRNKD
 ** ** ** * * * * *
 OLF2 IKRALRRLLG KERDSRESWR AA
 OLF3 VKGAWQKLLW KFSGL-TSKL AT
 11-2 VKVALRKALI KIQ-RBN--I -F
 * * * *

30 / 31

☒ 30

OLF2 M---DNQ SSTPGFLLG FSEHPGLGRT LFVDVITSYL LTLVGNTLII LLSALDTKLH
 OLF3 MGT-DNQ TWVSEFILLG LSSDWDTRVS LFVFLVMYV VTVLGNCLIV LLIRLDSRLH
 11-3 MLAR-NN SLVTEFILAG LTDRPEFRQP LFFLFLVIYI VTMVGNLGLI ILFGLNSHLH
 * * * * *
 OLF2 SPMYFFLSNL SFLDLCFTTS CVPQMLANLW GPKKTISFLD CSVQIFIFLS LGTTECILMK
 OLF3 TPMYFFLTNL SLVDVSYATS VVPQLLAHFL AEHKAIPFQS CAAQLFFSLA LGGIEFVLLA
 11-3 TPMYFFLFNL SFIDL CYSSV FTPKMLMNFV SKKNIISYVG CMTQLFFFLF FVISECYILT
 *** ** * * * * *
 OLF2 VMAFDREYVAV CQPLHYATII HPRLCWQLAS VAWVIGLVGS VVQTPSTLHL PFCPDRQVDD
 OLF3 VMAYDREYVAV CDALRYSAIM HGGLCARLAI TSWVSGFISS PVQTAITFQL PMCRNKFIDH
 11-3 SMAYDREYVAI CNPLLYKVTM SHQVCSMLTF AAYINGLAGA TAHTGCMLRL TFCSANIINH
 ** ***** * * * * *
 OLF2 FVCEVPALIR LSCEDTSYNE IQVAVASVFI LVVPLSLILV SYGAITWAVL RINSATAWRK
 OLF3 ISCELLAVVR LACVDTSSNE VTIMVSSIVL LMTPLCLVLL SYIQIISTIL KIQSREGRKK
 11-3 YLCDILPLLQ LSCSTSYVNE VVVLIVVGIN IMVPSCTILI SYVFIVTSIL HIKSTQGRSK
 * * * * *
 OLF2 AFGTCSSHLT VTLFYSSVI AVYLQPKNPY AQGRGKFFGL FYAVGTPSLN PLVYTLRNKE
 OLF3 AFHTCASHLT VVALCYGVAI FTYIQPHSSP SVLQEKLSV FYAILTPMLN PMIYSLRNKE
 11-3 AFSTCSSHVI ALSLFFGSAA FMYIKY-SSG SMEQGVSSV FYTNVVPMLN PLIYSLRNKD
 ** ** * * * * *
 OLF2 IKRALBRLLG KERDSRESWR AA
 OLF3 VKGAWQKLLW KFSGL-TSKL AT
 11-3 VKVALRKALI KIQ-RRN--I -F
 * * * *

3 1 / 3 1

☒ 3 1

OLF2 M---DNQ SSTPGFLLG FSEHPGLGRT LFVDVITSYL LTLVGNTLII LLSALDTKLH
 OLF3 MGT-DNQ TWVSEFILLG LSSDWDTRVS LFVLFLVMYV VTVLGNCLIV LLIRLDSRLH
 11-4 MTLR-NS SSVTEFILVG LSEQPELQLP LFLFLGIYV FTVVGNLGLI TLIGINPSLH
 * * * * * ** * * ** * **
 OLF2 SPMYFFLSNL SFLDLCFTTS CVPQMLANLW GPKKTISFLD CSVQIFIFLS LGTTECILMK
 OLF3 TPMYFFLTNL SLVDVSATS VVPQLLAHFL AEHKAIPFQS CAAQLFFSLA LGGIEFVLLA
 11-4 TPMYFFLFNL SFIDLCSYCV FTPKMLNDFV SES-IISYVG CMTQLFFFCF FVNSECYVLV
 ***** ** * * * * * * * * * *
 OLF2 VMAFDYVAV CQPLHYATII HPRLCWQLAS VAWVIGLVGS VVQTPSTLHL PFCPDRQVDD
 OLF3 VMAYDYVAV CDALRYSAIM HGGLCARLAI TSWVSGFISS PVQTAITFQL PMCRNKFIDH
 11-4 SMAYDYVAI CNPLLYMVTM SPRVCFLLMF GSYVVGFA MAHTGSMLRL TFCDSNVIDH
 ** ***** * * * * * * * * * *
 OLF2 FVCEVPALIR LSCEDTSYNE IQVAVASVFI LVPPLSLILV SYGAITWAVL RINSATAWRK
 OLF3 ISCELLAVVR LACVDTSSNE VTIMVSSIVL LMTPLCLVLL SYIQIISTIL KIQSREGRKK
 11-4 YLCDVPLLLQ LSCTSTHVSE LVFFIVVGVI TMLSSISIVI SYALILSNIL CIPSAEGRSK
 * * * * * ** * * * *
 OLF2 AFGTCSSHLT VVTIFYSSVI AVYLQPKNPY AQGRGKFFGL FYAVGTPSLN PLVYTLENKE
 OLF3 AFHTCASHLT VVALCYGVAI FTYIQPHSSP SVLQEKLFVS FYAILTPMLN PHIYSLNKE
 11-4 AFSTWGSII AVALFFGSGT FTYLTTSFPG SMNHGRFASV FYTNVVPMLN PSIYSLNKE
 ** * ** * * * ** * * * * *
 OLF2 IKRALRRLG KERDSRESWR AA
 OLF3 VKGAWQKLLW KPSGL-TSKL AT
 11-4 DKLALGKTL- K----R--VL -F
 * * * *

配列表

SEQUENCE LISTING

<110> CHUGAI RESEARCH INSTITUTE FOR MOLECULAR MEDICINE, INC.

株式会社 中外分子医学研究所

<120> G-PROTEIN-COUPLED RECEPTORS

新規G蛋白質結合型受容体

<130> C2-012DP1PCT

<140>

<141>

<150> JP 1998-288565

<151> 1998-10-09

<150> JP 1998-347546

<151> 1998-12-07

<150> JP 1998-363537

<151> 1998-12-21

<160> 53

<170> PatentIn version 2.0

<210> 1

<211> 1143

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (9)..(947)

<400> 1

ctcattga atg gac agt cta aac caa aca aga gtg act gaa ttt gtc ttc 50

Met Asp Ser Leu Asn Gln Thr Arg Val Thr Glu Phe Val Phe

1

5

10

ttg gga ctc act gat aac cgg gtg ctg gaa atg ctg ttt ttc atg gca 98

Leu Gly Leu Thr Asp Asn Arg Val Leu Glu Met Leu Phe Phe Met Ala

15

20

25

30

ttc tca gcc att tat atg cta acg ctt tca ggg aac att ctc atc atc 146

Phe Ser Ala Ile Tyr Met Leu Thr Leu Ser Gly Asn Ile Leu Ile Ile

35

40

45

att gcc aca gtc ttt act cca agt ctc cat acc ccc atg tat ttc ttc 194

Ile Ala Thr Val Phe Thr Pro Ser Leu His Thr Pro Met Tyr Phe Phe

50

55

60

ctg agc aat ctg tcc ttt att gac atc tgc cac tca tct gtc act gtg 242

Leu Ser Asn Leu Ser Phe Ile Asp Ile Cys His Ser Ser Val Thr Val

65

70

75

cct aag atg ttg gag ggt ttg ctt tta gaa aga aag acc att tcc ttt 290

gtt tct ctt cga aaa cac tca gct gaa ggg cgc cag aaa gcc ctg tct 722

Val Ser Leu Arg Lys His Ser Ala Glu Gly Arg Gln Lys Ala Leu Ser

225

230

235

acc tgc tgc gcc cac ttc atg gtg gtt gcc ctc ttc ttt ggg cca tgt 770

Thr Cys Ser Ala His Phe Met Val Val Ala Leu Phe Phe Gly Pro Cys

240

245

250

atc ttc atc tat act cgg cca gac acc agc ttc tcc att gac aag gtg 818

Ile Phe Ile Tyr Thr Arg Pro Asp Thr Ser Phe Ser Ile Asp Lys Val

255

260

265

270

gtg tct gtc ttc tac aca gtg gtc acc cct ttg ctg aat ccc ttc att 866

Val Ser Val Phe Tyr Thr Val Val Thr Pro Leu Leu Asn Pro Phe Ile

275

280

285

tac acc ttg agg aat gag gag gta aaa agt gcc atg aag cag ctc agg 914

Tyr Thr Leu Arg Asn Glu Glu Val Lys Ser Ala Met Lys Gln Leu Arg

290

295

300

cag aga caa gtt ttt ttc acg aaa tca tat aca taatgggcat tgggattgca 967

Gln Arg Gln Val Phe Phe Thr Lys Ser Tyr Thr

305

310

gacataattg cagccacatc cttaatgaaa gagcaaaaagt aaagagtcaa aatcaactta 1027

tataacttgg taaattaggt aaaatggcat agagcaggtc agatttctgc tcattaaaga 1087

taagaactta ttctgttcat taaagataag aacttattaa ctattattta aataaa 1143

<210> 2

<211> 1248

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (13)..(951)

<400> 2

attctctggg at atg gaa aga atc aac agc aca ctg ttg act gcg ttt atc 51

Met Glu Arg Ile Asn Ser Thr Leu Leu Thr Ala Phe Ile

1

5

10

ctg aca gga att ccg tat cca ctc agg cta agg aca ctc ttt ttt gtg 99

Leu Thr Gly Ile Pro Tyr Pro Leu Arg Leu Arg Thr Leu Phe Phe Val

15

20

25

ttc ttt ttt cta atc tac atc ctg act cag ctg gga aac ctg ctt att 147

Phe Phe Phe Leu Ile Tyr Ile Leu Thr Gln Leu Gly Asn Leu Leu Ile

30

35

40

45

tta atc act gtc tgg gca gac cca agg ctc cat gcc cgc ccc atg tac 195

Leu Ile Thr Val Trp Ala Asp Pro Arg Leu His Ala Arg Pro Met Tyr

50

55

60

atc ttt ctt ggt gtt ctc tca gtc att gat atg agc atc tcc tcc atc 243

Ile Phe Leu Gly Val Leu Ser Val Ile Asp Met Ser Ile Ser Ser Ile

65

70

75

att gtc cct cgc ctc atg atg aac ttc act tta ggt gtc aaa ccc atc 291

Ile Val Pro Arg Leu Met Met Asn Phe Thr Leu Gly Val Lys Pro Ile

80

85

90

cca ttt ggt ggc tgt gtt gct caa ctc tat ttc tat cac ttc ctg ggc 339

Pro Phe Gly Gly Cys Val Ala Gln Leu Tyr Phe Tyr His Phe Leu Gly

95

100

105

agc acc cag tgc ttc ctc tac acc cta atg gcc tat gac agg tac ctg 387
 Ser Thr Gln Cys Phe Leu Tyr Thr Leu Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Leu
 110 115 120 125
 gca ata tgt cag ccc ctg cgc tac cct gtg ctc atg act gct aag ctg 435
 Ala Ile Cys Gln Pro Leu Arg Tyr Pro Val Leu Met Thr Ala Lys Leu
 130 135 140
 agc gcc ttg ctt gtg gct gga gcc tgg atg gca gga tcc atc cat ggg 483
 Ser Ala Leu Leu Val Ala Gly Ala Trp Met Ala Gly Ser Ile His Gly
 145 150 155
 gct ctc cag gcc atc cta acc ttc cgc ctg ccc tac tgt ggg ccc aat 531
 Ala Leu Gln Ala Ile Leu Thr Phe Arg Leu Pro Tyr Cys Gly Pro Asn
 160 165 170
 cag gtg gat tac ttc ttc tgt gac atc cct gca gtg ttg aga ctg gcc 579
 Gln Val Asp Tyr Phe Phe Cys Asp Ile Pro Ala Val Leu Arg Leu Ala
 175 180 185
 tgt gct gac aca aca gtc aac gag ctg gtg acg ttt gta gac att ggg 627
 Cys Ala Asp Thr Thr Val Asn Glu Leu Val Thr Phe Val Asp Ile Gly
 190 195 200 205
 gtg gtg gtt gcc agt tgc ttc tcc ctg atc ctc ctc tcc tac ata cag 675
 Val Val Val Ala Ser Cys Phe Ser Leu Ile Leu Leu Ser Tyr Ile Gln
 210 215 220
 atc att cag gcc atc ctg aga atc cac aca gct gat ggg cgg cgc cgg 723
 Ile Ile Gln Ala Ile Leu Arg Ile His Thr Ala Asp Gly Arg Arg Arg
 225 230 235
 gct ttt tca act tgt gga gcc cat gta acc gtg gtc acc gtg tac tat 771
 Ala Phe Ser Thr Cys Gly Ala His Val Thr Val Val Thr Val Tyr Tyr

240 245 250
 gtg ccc tgt gcc ttc atc tac ctg agg cct gaa acc aac agc ccc ctg 819
 Val Pro Cys Ala Phe Ile Tyr Leu Arg Pro Glu Thr Asn Ser Pro Leu
 255 260 265
 gat ggg gca gct gcc cta gtc ccc acg gcc atc act cct ttc ctc aac 867
 Asp Gly Ala Ala Ala Leu Val Pro Thr Ala Ile Thr Pro Phe Leu Asn
 270 275 280 285
 ccc ctt atc tac act ctg cgg aac caa gag gtg aag ctg gcc ctg aaa 915
 Pro Leu Ile Tyr Thr Leu Arg Asn Gln Glu Val Lys Leu Ala Leu Lys
 290 295 300
 aga atg ctc aga agc cca aga act ccg agt gag gtt tgaaagtgtc 961
 Arg Met Leu Arg Ser Pro Arg Thr Pro Ser Glu Val
 305 310
 tttctccac tagggaagct gccacaatta gaatttatta taatgttttag gcttcggtaa 1021
 cttttttctt ttcttcttgt tttttctctt ttatatagcc atactgtatg atcaaacaca 1081
 gtttaaggta aaatactaac ttcttaacag ttccttagta tcctctcaag ataactctca 1141
 gccactgcaa gagtagagaa tgagaccaa ttctcacaaa ctaaaccaca ttaaacaatc 1201
 cagaagaaag aatgcaatag tgtattttcc aatgtctcag taataaa 1248

<210> 3

<211> 1431

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (410)..(1339)

<400> 3

ggcaacctaa aagcaagcat ggacagttcc ttggtgaata accaaaaaca agatggagtc 60
 tcgctctgtt gcccaggctg gagtgtagt ggcacatctc ggctcgctgc ggtctccgcc 120
 tcccgggttc aggcgattct ccggcctcag cctcccgggt gcgtgggatt gcaggaacta 180
 gaactaaagc gaggttaatt tccacagtga gaacatgctc cagacatccg agcaccagtg 240
 tggctctgga aactccacag ataccacagg actagaaaat aactggacaa tgggatgttc 300
 tatcttgccc gaactgaggg atataaaaag ctccaaagac aaagaaagta ccateccacc 360
 atcccaaaag aaattatcct tccttctgaa aataagactg caaaaagac atg gga aag 418

Met Gly Lys

1

acc aaa aac aca tcg ctg gat gcc gtg gtg aca gat ttc att ctt ctg 466

Thr Lys Asn Thr Ser Leu Asp Ala Val Val Thr Asp Phe Ile Leu Leu

5

10

15

ggt ttg tct cac ccc cca aat cta aga agc ctc ctc ttc ctg gtc ttc 514

Gly Leu Ser His Pro Pro Asn Leu Arg Ser Leu Leu Phe Leu Val Phe

20

25

30

35

ttc atc att tac atc ctc act cag ctg ggg aac ctg ctc att ctg ctc 562

Phe Ile Ile Tyr Ile Leu Thr Gln Leu Gly Asn Leu Leu Ile Leu Leu

40

45

50

acc atg tgg gct gac ccg aag ctc tgt gct cgc ccc atg tac att ctt 610

Thr Met Trp Ala Asp Pro Lys Leu Cys Ala Arg Pro Met Tyr Ile Leu

55

60

65

ctg gga gtg ctc tca ttc ctg gac atg tgg ctc tcc tca gtc acc gtt 658

Leu Gly Val Leu Ser Phe Leu Asp Met Trp Leu Ser Ser Val Thr Val

70

75

80

cct cgg ctt att ttg gat ttt act cct tcc atc aag gct atc ccg ttt 706

Pro Arg Leu Ile Leu Asp Phe Thr Pro Ser Ile Lys Ala Ile Pro Phe
 85 90 95
 ggt ggc tgt gtg gct caa ctg tat ttc ttt cac ttc ctg ggc agc acc 754
 Gly Gly Cys Val Ala Gln Leu Tyr Phe Phe His Phe Leu Gly Ser Thr
 100 105 110 115
 cag tgc ttc ctc tac acc ttg atg gcc tat gac agg tac cta gca ata 802
 Gln Cys Phe Leu Tyr Thr Leu Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Leu Ala Ile
 120 125 130
 tgt cag ccc ctg cac tac cca gtg ctc atg aat ggg agg tta tgc aca 850
 Cys Gln Pro Leu His Tyr Pro Val Leu Met Asn Gly Arg Leu Cys Thr
 135 140 145
 gtc ctt gtg gct gga gct tgg gtc gcc ggc tcc atg cat ggg tct atc 898
 Val Leu Val Ala Gly Ala Trp Val Ala Gly Ser Met His Gly Ser Ile
 150 155 160
 cag gcc acc ttg acc ttc cgc ctg ccc tac tgt ggg ccc aat cag gtg 946
 Gln Ala Thr Leu Thr Phe Arg Leu Pro Tyr Cys Gly Pro Asn Gln Val
 165 170 175
 gat tac ttt atc tgt gac atc cgc gca gta ttg aga ctg gcc tgt gct 994
 Asp Tyr Phe Ile Cys Asp Ile Arg Ala Val Leu Arg Leu Ala Cys Ala
 180 185 190 195
 gac aca act gtc aat gag ctt gtg acc ttt gtg gac gtc agg gta gtg 1042
 Asp Thr Thr Val Asn Glu Leu Val Thr Phe Val Asp Val Arg Val Val
 200 205 210
 gcc gcc agt tgc ttc atg tta att ctg ctc tcc tat gcc aac ata gtc 1090
 Ala Ala Ser Cys Phe Met Leu Ile Leu Leu Ser Tyr Ala Asn Ile Val
 215 220 225

cat gcc atc ctg aag ata cgc acc gct gat ggg agg cgc cgg gcc ttc 1138

His Ala Ile Leu Lys Ile Arg Thr Ala Asp Gly Arg Arg Arg Ala Phe

230

235

240

tcc acc tgt ggc tcc cac cta atc gtg gtc aca gtc tac tat gtc ccc 1186

Ser Thr Cys Gly Ser His Leu Ile Val Val Thr Val Tyr Tyr Val Pro

245

250

255

tgt att ttc atc tac ctt agg gct ggc tcc aaa gac ccc ctg gat ggg 1234

Cys Ile Phe Ile Tyr Leu Arg Ala Gly Ser Lys Asp Pro Leu Asp Gly

260

265

270

275

gca gcg gct gtg ttt tac act gtt gtc act cca tta ctg aac ccc ctc 1282

Ala Ala Ala Val Phe Tyr Thr Val Val Thr Pro Leu Leu Asn Pro Leu

280

285

290

atc tat aca ctg agg aac cag gaa gtg aag tct gcc ctg aag agg ata 1330

Ile Tyr Thr Leu Arg Asn Gln Glu Val Lys Ser Ala Leu Lys Arg Ile

295

300

305

aca gca ggt tgaaggactg aatgaaaata agtaactaca tctgcatcat 1379

Thr Ala Gly

310

tatcactgcc actctcttca gctactgctg catgtgacaa atgcccata aa 1431

<210> 4

<211> 313

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Asp Ser Leu Asn Gln Thr Arg Val Thr Glu Phe Val Phe Leu Gly

1	5	10	15
Leu Thr Asp Asn Arg Val Leu Glu Met Leu Phe Phe Met Ala Phe Ser			
20	25	30	
Ala Ile Tyr Met Leu Thr Leu Ser Gly Asn Ile Leu Ile Ile Ala			
35	40	45	
Thr Val Phe Thr Pro Ser Leu His Thr Pro Met Tyr Phe Phe Leu Ser			
50	55	60	
Asn Leu Ser Phe Ile Asp Ile Cys His Ser Ser Val Thr Val Pro Lys			
65	70	75	80
Met Leu Glu Gly Leu Leu Leu Glu Arg Lys Thr Ile Ser Phe Asp Asn			
85	90	95	
Cys Ile Thr Gln Leu Phe Phe Leu His Leu Phe Ala Cys Ala Glu Ile			
100	105	110	
Phe Leu Leu Ile Ile Val Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Thr			
115	120	125	
Pro Leu His Tyr Pro Asn Val Met Asn Met Arg Val Cys Ile Gln Leu			
130	135	140	
Val Phe Ala Leu Trp Leu Gly Gly Thr Val His Ser Leu Gly Gln Thr			
145	150	155	160
Phe Leu Thr Ile Arg Leu Pro Tyr Cys Gly Pro Asn Ile Ile Asp Ser			
165	170	175	
Tyr Phe Cys Asp Val Pro Leu Val Ile Lys Leu Ala Cys Thr Asp Thr			
180	185	190	
Tyr Leu Thr Gly Ile Leu Ile Val Thr Asn Ser Gly Thr Ile Ser Leu			
195	200	205	
Ser Cys Phe Leu Ala Val Val Thr Ser Tyr Met Val Ile Leu Val Ser			

12/66

210 215 220
 Leu Arg Lys His Ser Ala Glu Gly Arg Gln Lys Ala Leu Ser Thr Cys
 225 230 235 240
 Ser Ala His Phe Met Val Val Ala Leu Phe Phe Gly Pro Cys Ile Phe
 245 250 255
 Ile Tyr Thr Arg Pro Asp Thr Ser Phe Ser Ile Asp Lys Val Val Ser
 260 265 270
 Val Phe Tyr Thr Val Val Thr Pro Leu Leu Asn Pro Phe Ile Tyr Thr
 275 280 285
 Leu Arg Asn Glu Glu Val Lys Ser Ala Met Lys Gln Leu Arg Gln Arg
 290 295 300
 Gln Val Phe Phe Thr Lys Ser Tyr Thr
 310

<210> 5

<211> 313

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Glu Arg Ile Asn Ser Thr Leu Leu Thr Ala Phe Ile Leu Thr Gly
 1 5 10 15
 Ile Pro Tyr Pro Leu Arg Leu Arg Thr Leu Phe Phe Val Phe Phe Phe
 20 25 30
 Leu Ile Tyr Ile Leu Thr Gln Leu Gly Asn Leu Leu Ile Leu Ile Thr
 35 40 45
 Val Trp Ala Asp Pro Arg Leu His Ala Arg Pro Met Tyr Ile Phe Leu

50	55	60	
Gly Val Leu Ser Val Ile Asp Met Ser Ile Ser Ser Ile Ile Val Pro			
65	70	75	80
Arg Leu Met Met Asn Phe Thr Leu Gly Val Lys Pro Ile Pro Phe Gly			
	85	90	95
Gly Cys Val Ala Gln Leu Tyr Phe Tyr His Phe Leu Gly Ser Thr Gln			
	100	105	110
Cys Phe Leu Tyr Thr Leu Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Leu Ala Ile Cys			
	115	120	125
Gln Pro Leu Arg Tyr Pro Val Leu Met Thr Ala Lys Leu Ser Ala Leu			
	130	135	140
Leu Val Ala Gly Ala Trp Met Ala Gly Ser Ile His Gly Ala Leu Gln			
145	150	155	160
Ala Ile Leu Thr Phe Arg Leu Pro Tyr Cys Gly Pro Asn Gln Val Asp			
	165	170	175
Tyr Phe Phe Cys Asp Ile Pro Ala Val Leu Arg Leu Ala Cys Ala Asp			
	180	185	190
Thr Thr Val Asn Glu Leu Val Thr Phe Val Asp Ile Gly Val Val Val			
	195	200	205
Ala Ser Cys Phe Ser Leu Ile Leu Leu Ser Tyr Ile Gln Ile Ile Gln			
	210	215	220
Ala Ile Leu Arg Ile His Thr Ala Asp Gly Arg Arg Arg Ala Phe Ser			
225	230	235	240
Thr Cys Gly Ala His Val Thr Val Val Thr Val Tyr Tyr Val Pro Cys			
	245	250	255
Ala Phe Ile Tyr Leu Arg Pro Glu Thr Asn Ser Pro Leu Asp Gly Ala			

260 265 270
 Ala Ala Leu Val Pro Thr Ala Ile Thr Pro Phe Leu Asn Pro Leu Ile
 275 280 285
 Tyr Thr Leu Arg Asn Gln Glu Val Lys Leu Ala Leu Lys Arg Met Leu
 290 295 300
 Arg Ser Pro Arg Thr Pro Ser Glu Val
 310

<210> 6

<211> 310

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Gly Lys Thr Lys Asn Thr Ser Leu Asp Ala Val Val Thr Asp Phe
 1 5 10 15
 Ile Leu Leu Gly Leu Ser His Pro Pro Asn Leu Arg Ser Leu Leu Phe
 20 25 30
 Leu Val Phe Phe Ile Ile Tyr Ile Leu Thr Gln Leu Gly Asn Leu Leu
 35 40 45
 Ile Leu Leu Thr Met Trp Ala Asp Pro Lys Leu Cys Ala Arg Pro Met
 50 55 60
 Tyr Ile Leu Leu Gly Val Leu Ser Phe Leu Asp Met Trp Leu Ser Ser
 65 70 75 80
 Val Thr Val Pro Arg Leu Ile Leu Asp Phe Thr Pro Ser Ile Lys Ala
 85 90 95
 Ile Pro Phe Gly Gly Cys Val Ala Gln Leu Tyr Phe Phe His Phe Leu

100	105	110
Gly Ser Thr Gln Cys Phe Leu Tyr Thr Leu Met Ala Tyr Asp Arg Tyr		
115	120	125
Leu Ala Ile Cys Gln Pro Leu His Tyr Pro Val Leu Met Asn Gly Arg		
130	135	140
Leu Cys Thr Val Leu Val Ala Gly Ala Trp Val Ala Gly Ser Met His		
145	150	155
Gly Ser Ile Gln Ala Thr Leu Thr Phe Arg Leu Pro Tyr Cys Gly Pro		
165	170	175
Asn Gln Val Asp Tyr Phe Ile Cys Asp Ile Arg Ala Val Leu Arg Leu		
180	185	190
Ala Cys Ala Asp Thr Thr Val Asn Glu Leu Val Thr Phe Val Asp Val		
195	200	205
Arg Val Val Ala Ala Ser Cys Phe Met Leu Ile Leu Leu Ser Tyr Ala		
210	215	220
Asn Ile Val His Ala Ile Leu Lys Ile Arg Thr Ala Asp Gly Arg Arg		
225	230	235
Arg Ala Phe Ser Thr Cys Gly Ser His Leu Ile Val Val Thr Val Tyr		
245	250	255
Tyr Val Pro Cys Ile Phe Ile Tyr Leu Arg Ala Gly Ser Lys Asp Pro		
260	265	270
Leu Asp Gly Ala Ala Ala Val Phe Tyr Thr Val Val Thr Pro Leu Leu		
275	280	285
Asn Pro Leu Ile Tyr Thr Leu Arg Asn Gln Glu Val Lys Ser Ala Leu		
290	295	300
Lys Arg Ile Thr Ala Gly		

305

310

<210> 7

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400>7

ATGGACAGTC TAAACCAAAC AAGAGTG 27

<210> 8

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 8

ATGGCATTCT CAGCCATTTA TATGCTA 27

<210> 9

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 9

GGGAACATTC TCATCATCAT TGCCACA 27

<210> 10

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 10

TTATGTATAT GATTTCGTGA AAAAAAC 27

<210> 11

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 11

TACCTCCTCA TTCCTCAAGG TGTAAT 27

<210> 12

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 12

GGTGACCACT GTGTAGAAGA CAGACAC 27

<210> 13

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 13

ATGGAAAGAA TCAACAGCAC ACTGTTG 27

<210> 14

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 14

TCTAATCTAC ATCCTGACTC AGCTGGG 27

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 15

TTCAAACCTC ACTCGGAGTT CTTGGGC 27

<210> 16

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 16

AGCTTCACCT CTTGGTTCCG CAGAGTG 27

<210> 17

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 17

ATGGGAAAGA CCAAAAACAC ATCGCTG 27

<210> 18

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 18

CGTGGTGACA GATTTCATTC TTCTGGG 27

<210> 19

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 19

TCAACCTGCT GTTATCCTCT TCAGGGC 27

<210> 20

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificially Synthesized Primer Sequence

<400> 20

CCTGGTTCCT CAGTGTATAG ATGAGGG 27

<210> 21

<211> 942

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 21

atggacagtc taaaccaaac aagagtgact gaatttgtct tcttgggact cactgataac 60
cggggtgctgg aaatgctgtt tttcatggca ttctcagcca tttatatgct aacgctttca 120
gggaacattc tcatcatcat tgccacagtc tttactccaa gtctccatac ccccatgtat 180
ttcttcctga gcaatctgtc ctttattgac atctgccact catctgtcac tgtgcctaag 240
atgttggagg gtttgctttt agaaagaaag accatttctt ttgacaactg catcacacag 300
ctcttcttcc tacatctctt tgctgtgcc gagatcttcc tgcctgatcat tgtggcgtat 360
gatcgttacg tggtatctg cactccactc cactacccca atgtgatgaa catgagagtc 420
tgtatacagc ttgtctttgc tctctggttg gggggtactg ttcactcact agggcagacc 480
ttcttgacta ttgctctacc ttactgtgga cccaacatta ttgacagcta cttctgtgat 540
gtgcctcttg ttatcaagct ggctgcaca gatacatacc tcacaggaat actgattgtg 600
accaatagtg gaaccatctc cctctcctgt ttcttgcccg tggtcacctc ctatatggtc 660
atcctggttt ctcttcgaaa aactcagct gaagggcgcc agaaagccct gtctacctgc 720
tcggcccaact tcattggtgt tgccctcttc tttgggccaat gtatcttcat ctatactcgg 780
ccagacacca gcttctccat tgacaagtg gtgtctgtct tctacacagt ggtcaccct 840
ttgctgaatc cttcattta caccttgagg aatgaggagg taaaagtgc catgaagcag 900
ctcaggcaga gacaagtttt tttcacgaaa tcatatacat aa 942

<210> 22

<211> 942

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 22

atggaaagaa tcaacagcac actgttgact gcgtttatcc tgacaggaat tccgtatcca 60
ctcaggctaa ggacactctt ttttgtgttc ttttttctaa tctacatcct gactcagctg 120
ggaaacctgc ttattttaat cactgtctgg gcagacccaa ggctccatgc ccgccccatg 180
tacatctttc ttggtgttct ctcagtcatt gatatgagca tctcctccat cattgtccct 240
cgcctcatga tgaacttcac tttaggtgtc aaacccatcc catttggtgg ctgtgttgct 300
caactctatt tctatcactt cctgggcagc acccagtgc tctctacac cctaattggc 360
tatgacaggt acctggcaat atgtcagccc ctgcgctacc ctgtgctcat gactgctaag 420
ctgagcgcct tgcttgtggc tggagcctgg atggcaggat ccatccatgg ggctctccag 480
gccatcctaa ccttccgcct gccctactgt gggcccaatc aggtggatta cttcttctgt 540
gacatccctg cagtgttgag actggcctgt gctgacacaa cagtcaacga gctggtgacg 600
ttttagacaa ttgggggtgt ggttgccagt tgcttctccc tgatcctcct ctctacata 660
cagatcattc aggccatcct gagaatccac acagctgatg ggcggcgcgc ggctttttca 720
acttgtggag cccatgtaac cgtggtcacc gtgtactatg tgccctgtgc cttcatctac 780
ctgaggcctg aaaccaacag cccctggat ggggcagctg ccctagtccc cacggccatc 840
actcctttcc tcaacccctt tatctacact ctgcggaacc aagaggtgaa gctggccctg 900
aaaagaatgc tcagaagccc aagaactccg agtgaggttt ga 942

<210> 23

<211> 933

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 23

atgggaaaga ccaaaaacac atcgttgat gccgtggtga cagatttcat tcttctgggt 60
ttgtctcacc ccccaaatct aagaagctc ctcttctctg tcttcttcat catttacatc 120
ctcactcagc tggggaacct gctcattctg ctcacctgt gggctgacct gaagctctgt 180

gctcgcccca tgtacattct tctgggagtg ctctcattec tggacatgtg gctctcctca 240
gtcaccgttc ctggccttat tttggatttt actccttcca tcaaggctat cccgttttgt 300
ggctgtgtgg ctcaactgta tttctttcac ttctgggca gcaccagtg ctctctctac 360
accttgatgg cctatgacag gtacctagca atatgtcage cctgcacta cccagtgtct 420
atgaatggga ggttatgcac agtccttgtg gctggagctt gggtcgccgg ctccatgcat 480
gggtctatcc aggccacctt gaccttccgc ctgccctact gtgggcccaa tcaggtggat 540
tactttatct gtgacatccg cgcagtattg agactggcct gtgctgacac aactgtcaat 600
gagcttgtga cctttgtgga cgicaggga gtggccgcca gttgcttcat gttaattctg 660
ctctcctatg ccaacatagt ccatgccatc ctgaagatac gcaccgtga tgggagcgcg 720
cgggccttct ccacctgtgg ctcccaccta atcgttgtca cagtctacta tgteccctgt 780
attttcatct accttagggc tggtccaaa gacccctgg atggggcagc ggctgtgttt 840
tacactgttg tcactccatt actgaacccc ctcatctata cactgaggaa ccaggaagtg 900
aagtctgccc tgaagaggat aacagcaggt tga 933

<210> 24

<211> 1060

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (17)..(892)

<400> 24

aaatgcctaa agaaga atg acc atg gaa aat tat tct atg gca gct cag ttt 52

Met Thr Met Glu Asn Tyr Ser Met Ala Ala Gln Phe

	1	5	10	
gtc tta gat ggt tta aca cag caa gca gag ctc cag ctg ccc ctc ttc				100
Val Leu Asp Gly Leu Thr Gln Gln Ala Glu Leu Gln Leu Pro Leu Phe				
15	20	25		
ctc ctg ttc ctg gga atc tat gtg gtc aca gta gtg ggc aac ctg ggc				148
Leu Leu Phe Leu Gly Ile Tyr Val Val Thr Val Val Gly Asn Leu Gly				
30	35	40		
atg att ctc ctg att gca gtc agc cct cta ctt cac acc ccc atg tac				196
Met Ile Leu Leu Ile Ala Val Ser Pro Leu Leu His Thr Pro Met Tyr				
45	50	55	60	
tat ttc ctc agc agc ttg tcc ttc gtc gat ttc tgc tat tcc tct gtc				244
Tyr Phe Leu Ser Ser Leu Ser Phe Val Asp Phe Cys Tyr Ser Ser Val				
65	70	75		
att act ccc aaa atg ctg gtg aac ttc cta gga aag aag aat aca atc				292
Ile Thr Pro Lys Met Leu Val Asn Phe Leu Gly Lys Lys Asn Thr Ile				
80	85	90		
ctt tac tct gag tgc atg gtc cag ctc ttt ttc ttt gtg gtc ttt gtg				340
Leu Tyr Ser Glu Cys Met Val Gln Leu Phe Phe Phe Val Val Phe Val				
95	100	105		

gtg gct gag ggt tac ctc ctg act gcc atg gca tat gat cgc tat gtt 388

Val Ala Glu Gly Tyr Leu Leu Thr Ala Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val

110

115

120

gcc atc tgt agc cca ctg ctt tat aat gcg atc atg tcc tca tgg gtc 436

Ala Ile Cys Ser Pro Leu Leu Tyr Asn Ala Ile Met Ser Ser Trp Val

125

130

135

140

tgc tca ctg cta gtg ctg gct gcc ttc ttc ttg ggc ttt ctc tct gcc 484

Cys Ser Leu Leu Val Leu Ala Ala Phe Phe Leu Gly Phe Leu Ser Ala

145

150

155

ttg act cat aca agt gcc atg atg aaa ctg tcc ttt tgc aaa tcc cac 532

Leu Thr His Thr Ser Ala Met Met Lys Leu Ser Phe Cys Lys Ser His

160

165

170

att atc aac cat tac ttc tgt gat gtt ctt ccc ctc ctc aat ctc tcc 580

Ile Ile Asn His Tyr Phe Cys Asp Val Leu Pro Leu Leu Asn Leu Ser

175

180

185

tgc tcc aac aca cac ctc aat gag ctt cta ctt ttt atc att gcg ggg 628

Cys Ser Asn Thr His Leu Asn Glu Leu Leu Leu Phe Ile Ile Ala Gly

190

195

200

ttt aac acc ttg gtg ccc acc cta gct gtt gct gtc tcc tat gcc ttc 676

Phe Asn Thr Leu Val Pro Thr Leu Ala Val Ala Val Ser Tyr Ala Phe

205 210 215 220

atc ctc tac agc atc ctt cac atc cgc tcc tca gag ggc cgg tcc aaa 724
Ile Leu Tyr Ser Ile Leu His Ile Arg Ser Ser Glu Gly Arg Ser Lys

 225 230 235

gct ttt gga aca tgc agc tct cat ctc atg gct gtg gtg atc ttc ttt 772
Ala Phe Gly Thr Cys Ser Ser His Leu Met Ala Val Val Ile Phe Phe

 240 245 250

ggg tcc att acc ttc atg tat ttc aag ccc cct tca agt aac tcc ctg 820
Gly Ser Ile Thr Phe Met Tyr Phe Lys Pro Pro Ser Ser Asn Ser Leu

 255 260 265

gac cag gag aag gtg tcc tct gtg ttc tac acc acg gtg atc ccc atg 868
Asp Gln Glu Lys Val Ser Ser Val Phe Tyr Thr Thr Val Ile Pro Met

 270 275 280

ctg aac cct tta ata tac agt ctg taatcacagc actttggaag gctgaggcag 922
Leu Asn Pro Leu Ile Tyr Ser Leu

285 290

ggttgcttga gtccagtttg agaccatcct ggggaacata gtgcgatctt gtttctttcc 982

actgcctaaa aacttcaatg ctcaatttta cttgcaatit cctcttcctg acatggagaa 1042

tgttggcttg gaatgttc

1060

<210> 25

<211> 1069

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (18)..(956)

<400> 25

atTTTTgaag acaaaaa atg ctg gct aga aac aac tcc tta gtg act gaa 50

Met Leu Ala Arg Asn Asn Ser Leu Val Thr Glu

1

5

10

ttt att ctt gct gga tta aca gat cgt cca gag ttc tgg caa ccc ttc 98

Phe Ile Leu Ala Gly Leu Thr Asp Arg Pro Glu Phe Trp Gln Pro Phe

15

20

25

ttt ttc ctg ttc cta gtg atc tac att gtc acc atg gta ggc aac ctt 146

Phe Phe Leu Phe Leu Val Ile Tyr Ile Val Thr Met Val Gly Asn Leu

30

35

40

ggc ttg atc act ctt ttc ggt cta aat tct cac ctc cac aca cca atg 194

Gly Leu Ile Thr Leu Phe Gly Leu Asn Ser His Leu His Thr Pro Met
 45 50 55

tac tat ttc ctc ttc aat ctc tcc ttc att gat ctc tgt tac tcc tct 242
 Tyr Tyr Phe Leu Phe Asn Leu Ser Phe Ile Asp Leu Cys Tyr Ser Ser
 60 65 70 75

gtt ttc act ccc aaa atg cta atg aac ttt gtg tca aaa aag aat att 290
 Val Phe Thr Pro Lys Met Leu Met Asn Phe Val Ser Lys Lys Asn Ile
 80 85 90

atc tcc aat gtt ggg tgc atg act cgg ctg ttt ttc ttt ctc ttt ttc 338
 Ile Ser Asn Val Gly Cys Met Thr Arg Leu Phe Phe Phe Leu Phe Phe
 95 100 105

gtc atc tct gaa tgt tac atg ttg acc tca atg gca tat gat cgc tat 386
 Val Ile Ser Glu Cys Tyr Met Leu Thr Ser Met Ala Tyr Asp Arg Tyr
 110 115 120

gtg gcc atc tgt aat cca ttg ctg tat aag gtc acc atg tcc cat cag 434
 Val Ala Ile Cys Asn Pro Leu Leu Tyr Lys Val Thr Met Ser His Gln
 125 130 135

gtc tgt tct atg ctc act ttt gct gct tac ata atg gga ttg gct gga 482
 Val Cys Ser Met Leu Thr Phe Ala Ala Tyr Ile Met Gly Leu Ala Gly
 140 145 150 155

gcc acg gcc cac acc ggg tgc atg ttt aga ctc acc ttc tgc agt gct 530
Ala Thr Ala His Thr Gly Cys Met Phe Arg Leu Thr Phe Cys Ser Ala
160 165 170

aat atc att aac cat tac ttg tgt gac ata ctc ccc ctc ctc cag ctt 578
Asn Ile Ile Asn His Tyr Leu Cys Asp Ile Leu Pro Leu Leu Gln Leu
175 180 185

tcc tgc acc agc acc tat gtc aac gag gtg gtt gtt ctc att gtt gtg 626
Ser Cys Thr Ser Thr Tyr Val Asn Glu Val Val Val Leu Ile Val Val
190 195 200

ggt act aat atc acg gta ccc agt tgt acc atc ctc att tct tat gtt 674
Gly Thr Asn Ile Thr Val Pro Ser Cys Thr Ile Leu Ile Ser Tyr Val
205 210 215

ttc att gtc act agc att ctt cat atc aaa tcc act caa gga aga tca 722
Phe Ile Val Thr Ser Ile Leu His Ile Lys Ser Thr Gln Gly Arg Ser
220 225 230 235

aaa gcc ttc agt act tgt agc tct cat gtc att gct ctg tct ctg ttt 770
Lys Ala Phe Ser Thr Cys Ser Ser His Val Ile Ala Leu Ser Leu Phe
240 245 250

ttt ggg tca gcg gca ttc atg tat att aaa tat tct tct gga tct atg 818

Phe Gly Ser Ala Ala Phe Met Tyr Ile Lys Tyr Ser Ser Gly Ser Met
255 260 265

gag cag gga aaa gtt ttt tct gtt ttc tac act aat gtg gtg ccc atg 866
Glu Gln Gly Lys Val Phe Ser Val Phe Tyr Thr Asn Val Val Pro Met
270 275 280

ctc aat ccc ctc atc tac agt ttg agg aac aag gat gtc aaa gtt gca 914
Leu Asn Pro Leu Ile Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Val Lys Val Ala
285 290 295

ctg agg aaa gct ctg att aaa att cag agg aga aat ata ttc 956
Leu Arg Lys Ala Leu Ile Lys Ile Gln Arg Arg Asn Ile Phe
300 305 310

taattagaag cagtaatgat gtaaaacaat tgaaggactt caaattttta ttagtgtttt 1016

tcatgaagag attttgttgt ttctacagat ggtgttatgt gtgatttaat aaa 1069

<210> 26

<211> 1069

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (18)..(956)

<400> 26

atTTTTgaag acaaaaa atg ctg gct aga aac aac tcc tta gtg act gaa 50

Met Leu Ala Arg Asn Asn Ser Leu Val Thr Glu

1

5

10

ttt att ctt gct gga tta aca gat cgt cca gag ttc cgg caa ccc ctc 98

Phe Ile Leu Ala Gly Leu Thr Asp Arg Pro Glu Phe Arg Gln Pro Leu

15

20

25

ttt ttc ctg ttt cta gtg atc tac att gtc acc atg gta ggc aac ctt 146

Phe Phe Leu Phe Leu Val Ile Tyr Ile Val Thr Met Val Gly Asn Leu

30

35

40

ggc ttg atc att ctt ttc ggt cta aat tct cac ctc cac aca cca atg 194

Gly Leu Ile Ile Leu Phe Gly Leu Asn Ser His Leu His Thr Pro Met

45

50

55

tac tat ttc ctc ttc aat ctc tcc ttc att gat ctc tgt tac tcc tct 242

Tyr Tyr Phe Leu Phe Asn Leu Ser Phe Ile Asp Leu Cys Tyr Ser Ser

60

65

70

75

gtt ttc act ccc aaa atg cta atg aac ttt gta tca aaa aag aat att 290

Val Phe Thr Pro Lys Met Leu Met Asn Phe Val Ser Lys Lys Asn Ile

80	85	90	
atc tcc tat gtt ggg tgc atg act cag ctg ttt ttc ttt ctc ttt ttt			338
Ile Ser Tyr Val Gly Cys Met Thr Gln Leu Phe Phe Phe Leu Phe Phe			
95	100	105	
gtc atc tct gaa tgc tac ata ttg acc tca atg gca tat gat cgc tat			386
Val Ile Ser Glu Cys Tyr Ile Leu Thr Ser Met Ala Tyr Asp Arg Tyr			
110	115	120	
gtg gcc atc tgt aat cca ttg ctg tat aag gtc acc atg tcc cat cag			434
Val Ala Ile Cys Asn Pro Leu Leu Tyr Lys Val Thr Met Ser His Gln			
125	130	135	
gtc tgt tct atg ctc act ttt gct gct tac ata atg gga ttg gct gga			482
Val Cys Ser Met Leu Thr Phe Ala Ala Tyr Ile Met Gly Leu Ala Gly			
140	145	150	155
gcc acg gcc cac acc ggg tgc atg ctt aga ctc acc ttc tgc agt gct			530
Ala Thr Ala His Thr Gly Cys Met Leu Arg Leu Thr Phe Cys Ser Ala			
160	165	170	
aat atc atc aac cat tac ttg tgt gac ata ctc ccc ctc ctc cag ctt			578
Asn Ile Ile Asn His Tyr Leu Cys Asp Ile Leu Pro Leu Leu Gln Leu			
175	180	185	

tcc tgc acc agc acc tat gtc aac gag gtg gtt gtt ctc att gtt gtg 626

Ser Cys Thr Ser Thr Tyr Val Asn Glu Val Val Val Leu Ile Val Val

190

195

200

ggt att aat atc atg gta ccc agt tgt acc atc ctc att tct tat gtt 674

Gly Ile Asn Ile Met Val Pro Ser Cys Thr Ile Leu Ile Ser Tyr Val

205

210

215

ttc att gtc act agc att ctt cat atc aaa tcc act caa gga aga tca 722

Phe Ile Val Thr Ser Ile Leu His Ile Lys Ser Thr Gln Gly Arg Ser

220

225

230

235

aaa gcc ttc agt act tgt agc tct cat gtc att gct ctg tct ctg ttt 770

Lys Ala Phe Ser Thr Cys Ser Ser His Val Ile Ala Leu Ser Leu Phe

240

245

250

ttt ggg tca gcg gca ttc atg tat att aaa tat tct tct gga tct atg 818

Phe Gly Ser Ala Ala Phe Met Tyr Ile Lys Tyr Ser Ser Gly Ser Met

255

260

265

gag cag gga aaa gtt tct tct gtt ttc tac act aat gtg gtg ccc atg 866

Glu Gln Gly Lys Val Ser Ser Val Phe Tyr Thr Asn Val Val Pro Met

270

275

280

ctc aat cct ctc atc tac agt ttg agg aac aag gat gtc aaa gtt gca 914

Leu Asn Pro Leu Ile Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Val Lys Val Ala

285 290 295

ctg agg aaa gct ctg att aaa att cag aga aga aat ata ttc 956
Leu Arg Lys Ala Leu Ile Lys Ile Gln Arg Arg Asn Ile Phe

300 305 310

taattagaag cagtaataat gtaaaacgat tgaagaactt taaattttta ttagtgtggt 1016

ccatgaagag attttgttgt ttctacagat ggtggttatgt gtgatttaaat aaa 1069

<210> 27
<211> 976
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (19)..(945)

<400> 27

acagctcgcc aagagaga atg act ctg aga aac agc tcc tca gtg act gag 51
Met Thr Leu Arg Asn Ser Ser Ser Val Thr Glu

1 5 10

ttt atc ctt gtg gga tta tca gaa cag cca gag ctc cag ctc cct ctt 99

Phe Ile Leu Val Gly Leu Ser Glu Gln Pro Glu Leu Gln Leu Pro Leu
 15 20 25

ttc ctt cta ttc tta ggg atc tat gtg ttc act gtg gtg ggc aac ttg 147
 Phe Leu Leu Phe Leu Gly Ile Tyr Val Phe Thr Val Val Gly Asn Leu
 30 35 40

ggc ttg atc acc tta att ggg ata aat cct agc ctt cac acc ccc atg 195
 Gly Leu Ile Thr Leu Ile Gly Ile Asn Pro Ser Leu His Thr Pro Met
 45 50 55

tac ttt ttc ctc ttc aac ttg tcc ttt ata gat ctc tgt tat tcc tgt 243
 Tyr Phe Phe Leu Phe Asn Leu Ser Phe Ile Asp Leu Cys Tyr Ser Cys
 60 65 70 75

gtg ttt acc ccc aaa atg ctg aat gac ttt gtt tca gaa agt atc atc 291
 Val Phe Thr Pro Lys Met Leu Asn Asp Phe Val Ser Glu Ser Ile Ile
 80 85 90

tct tat gtg gga tgt atg act cag cta ttt ttc ttc tgt ttc ttt gtc 339
 Ser Tyr Val Gly Cys Met Thr Gln Leu Phe Phe Phe Cys Phe Phe Val
 95 100 105

aat tct gag tgc tat gtg ttg gta tca atg gcc tat gat cgc tat gtg 387
 Asn Ser Glu Cys Tyr Val Leu Val Ser Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val
 110 115 120

gcc atc tgc aac ccc ctg ctc tac atg gtc acc atg tcc cca agg gtc 435
 Ala Ile Cys Asn Pro Leu Leu Tyr Met Val Thr Met Ser Pro Arg Val
 125 130 135

tgc ttt ctg ctg atg ttt ggt tcc tat gtg gta ggg ttt gct ggg gcc 483
 Cys Phe Leu Leu Met Phe Gly Ser Tyr Val Val Gly Phe Ala Gly Ala
 140 145 150 155

atg gcc cac act gga agc atg ctg cga ctg acc ttc tgt gat tcc aac 531
 Met Ala His Thr Gly Ser Met Leu Arg Leu Thr Phe Cys Asp Ser Asn
 160 165 170

gtc att gac cat tat ctg tgt gac gtt ctc ccc ctc ttg cag ctc tcc 579
 Val Ile Asp His Tyr Leu Cys Asp Val Leu Pro Leu Leu Gln Leu Ser
 175 180 185

tgc acc agc acc cat gtc agt gag ctg gta ttt ttc att gtt gtt gga 627
 Cys Thr Ser Thr His Val Ser Glu Leu Val Phe Phe Ile Val Val Gly
 190 195 200

gta atc acc atg cta tcc agc ata agc atc gtc atc tct tac gct ttg 675
 Val Ile Thr Met Leu Ser Ser Ile Ser Ile Val Ile Ser Tyr Ala Leu
 205 210 215

ata ctc tcc aac atc ctc tgt att cct tct gca gag ggc aga tcc aaa 723

Ile Leu Ser Asn Ile Leu Cys Ile Pro Ser Ala Glu Gly Arg Ser Lys

220 225 230 235

gcc ttt agc aca tgg ggc tcc cac ata att gct gtt gct ctg ttt ttt 771

Ala Phe Ser Thr Trp Gly Ser His Ile Ile Ala Val Ala Leu Phe Phe

240 245 250

ggg tca ggg aca ttc acc tac tta aca aca tct ttt cct ggc tct atg 819

Gly Ser Gly Thr Phe Thr Tyr Leu Thr Thr Ser Phe Pro Gly Ser Met

255 260 265

aac cat ggc aga ttt gcc tca gtc ttt tac acc aat gtg gtt ccc atg 867

Asn His Gly Arg Phe Ala Ser Val Phe Tyr Thr Asn Val Val Pro Met

270 275 280

ctt aac cct tcg atc tac agt ttg agg aat aag gat gat aaa ctt gcc 915

Leu Asn Pro Ser Ile Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Asp Lys Leu Ala

285 290 295

ctg ggc aaa acc ctg aag aga gtg ctc ttc taatgggtct cttcatatca 965

Leu Gly Lys Thr Leu Lys Arg Val Leu Phe

300 305

ctggcaaccg a 976

<210> 28

<211> 292

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Met Thr Met Glu Asn Tyr Ser Met Ala Ala Gln Phe Val Leu Asp Gly

1 5 10 15

Leu Thr Gln Gln Ala Glu Leu Gln Leu Pro Leu Phe Leu Leu Phe Leu

20 25 30

Gly Ile Tyr Val Val Thr Val Val Gly Asn Leu Gly Met Ile Leu Leu

35 40 45

Ile Ala Val Ser Pro Leu Leu His Thr Pro Met Tyr Tyr Phe Leu Ser

50 55 60

Ser Leu Ser Phe Val Asp Phe Cys Tyr Ser Ser Val Ile Thr Pro Lys

65 70 75 80

Met Leu Val Asn Phe Leu Gly Lys Lys Asn Thr Ile Leu Tyr Ser Glu

85 90 95

Cys Met Val Gln Leu Phe Phe Phe Val Val Phe Val Val Ala Glu Gly

100 105 110

Tyr Leu Leu Thr Ala Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Ser

115

120

125

Pro Leu Leu Tyr Asn Ala Ile Met Ser Ser Trp Val Cys Ser Leu Leu

130

135

140

Val Leu Ala Ala Phe Phe Leu Gly Phe Leu Ser Ala Leu Thr His Thr

145

150

155

160

Ser Ala Met Met Lys Leu Ser Phe Cys Lys Ser His Ile Ile Asn His

165

170

175

Tyr Phe Cys Asp Val Leu Pro Leu Leu Asn Leu Ser Cys Ser Asn Thr

180

185

190

His Leu Asn Glu Leu Leu Leu Phe Ile Ile Ala Gly Phe Asn Thr Leu

195

200

205

Val Pro Thr Leu Ala Val Ala Val Ser Tyr Ala Phe Ile Leu Tyr Ser

210

215

220

Ile Leu His Ile Arg Ser Ser Glu Gly Arg Ser Lys Ala Phe Gly Thr

225

230

235

240

Cys Ser Ser His Leu Met Ala Val Val Ile Phe Phe Gly Ser Ile Thr

245

250

255

Phe Met Tyr Phe Lys Pro Pro Ser Ser Asn Ser Leu Asp Gln Glu Lys

260

265

270

Val Ser Ser Val Phe Tyr Thr Thr Val Ile Pro Met Leu Asn Pro Leu

275

280

285

Ile Tyr Ser Leu

290

<210> 29

<211> 313

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Met Leu Ala Arg Asn Asn Ser Leu Val Thr Glu Phe Ile Leu Ala Gly

1

5

10

15

Leu Thr Asp Arg Pro Glu Phe Trp Gln Pro Phe Phe Phe Leu Phe Leu

20

25

30

Val Ile Tyr Ile Val Thr Met Val Gly Asn Leu Gly Leu Ile Thr Leu

35

40

45

Phe Gly Leu Asn Ser His Leu His Thr Pro Met Tyr Tyr Phe Leu Phe

50

55

60

Asn Leu Ser Phe Ile Asp Leu Cys Tyr Ser Ser Val Phe Thr Pro Lys

65

70

75

80

Met Leu Met Asn Phe Val Ser Lys Lys Asn Ile Ile Ser Asn Val Gly

85

90

95

Cys Met Thr Arg Leu Phe Phe Phe Leu Phe Phe Val Ile Ser Glu Cys

100

105

110

Tyr Met Leu Thr Ser Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Asn

115

120

125

Pro Leu Leu Tyr Lys Val Thr Met Ser His Gln Val Cys Ser Met Leu

130

135

140

Thr Phe Ala Ala Tyr Ile Met Gly Leu Ala Gly Ala Thr Ala His Thr

145

150

155

160

Gly Cys Met Phe Arg Leu Thr Phe Cys Ser Ala Asn Ile Ile Asn His

165

170

175

Tyr Leu Cys Asp Ile Leu Pro Leu Leu Gln Leu Ser Cys Thr Ser Thr

180	185	190
Tyr Val Asn Glu Val Val Val Leu Ile Val Val Gly Thr Asn Ile Thr		
195	200	205
Val Pro Ser Cys Thr Ile Leu Ile Ser Tyr Val Phe Ile Val Thr Ser		
210	215	220
Ile Leu His Ile Lys Ser Thr Gln Gly Arg Ser Lys Ala Phe Ser Thr		
225	230	235
Cys Ser Ser His Val Ile Ala Leu Ser Leu Phe Phe Gly Ser Ala Ala		
245	250	255
Phe Met Tyr Ile Lys Tyr Ser Ser Gly Ser Met Glu Gln Gly Lys Val		
260	265	270
Phe Ser Val Phe Tyr Thr Asn Val Val Pro Met Leu Asn Pro Leu Ile		
275	280	285
Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Val Lys Val Ala Leu Arg Lys Ala Leu		
290	295	300
Ile Lys Ile Gln Arg Arg Asn Ile Phe		
305	310	

<210> 30

<211> 313

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Met Leu Ala Arg Asn Asn Ser Leu Val Thr Glu Phe Ile Leu Ala Gly

1

5

10

15

Leu Thr Asp Arg Pro Glu Phe Arg Gln Pro Leu Phe Phe Leu Phe Leu

20

25

30

Val Ile Tyr Ile Val Thr Met Val Gly Asn Leu Gly Leu Ile Ile Leu

35

40

45

Phe Gly Leu Asn Ser His Leu His Thr Pro Met Tyr Tyr Phe Leu Phe

50

55

60

Asn Leu Ser Phe Ile Asp Leu Cys Tyr Ser Ser Val Phe Thr Pro Lys

65

70

75

80

Met Leu Met Asn Phe Val Ser Lys Lys Asn Ile Ile Ser Tyr Val Gly

85

90

95

Cys Met Thr Gln Leu Phe Phe Phe Leu Phe Phe Val Ile Ser Glu Cys

100	105	110
Tyr Ile Leu Thr Ser Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Asn		
115	120	125
Pro Leu Leu Tyr Lys Val Thr Met Ser His Gln Val Cys Ser Met Leu		
130	135	140
Thr Phe Ala Ala Tyr Ile Met Gly Leu Ala Gly Ala Thr Ala His Thr		
145	150	155
		160
Gly Cys Met Leu Arg Leu Thr Phe Cys Ser Ala Asn Ile Ile Asn His		
165	170	175
Tyr Leu Cys Asp Ile Leu Pro Leu Leu Gln Leu Ser Cys Thr Ser Thr		
180	185	190
Tyr Val Asn Glu Val Val Val Leu Ile Val Val Gly Ile Asn Ile Met		
195	200	205
Val Pro Ser Cys Thr Ile Leu Ile Ser Tyr Val Phe Ile Val Thr Ser		
210	215	220
Ile Leu His Ile Lys Ser Thr Gln Gly Arg Ser Lys Ala Phe Ser Thr		
225	230	235
		240

Cys Ser Ser His Val Ile Ala Leu Ser Leu Phe Phe Gly Ser Ala Ala

245

250

255

Phe Met Tyr Ile Lys Tyr Ser Ser Gly Ser Met Glu Gln Gly Lys Val

260

265

270

Ser Ser Val Phe Tyr Thr Asn Val Val Pro Met Leu Asn Pro Leu Ile

275

280

285

Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Val Lys Val Ala Leu Arg Lys Ala Leu

290

295

300

Ile Lys Ile Gln Arg Arg Asn Ile Phe

305

310

<210> 31

<211> 309

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Met Thr Leu Arg Asn Ser Ser Ser Val Thr Glu Phe Ile Leu Val Gly

1

5

10

15

Leu Ser Glu Gln Pro Glu Leu Gln Leu Pro Leu Phe Leu Leu Phe Leu

20	25	30
Gly Ile Tyr Val Phe Thr Val Val Gly Asn Leu Gly Leu Ile Thr Leu		
35	40	45
Ile Gly Ile Asn Pro Ser Leu His Thr Pro Met Tyr Phe Phe Leu Phe		
50	55	60
Asn Leu Ser Phe Ile Asp Leu Cys Tyr Ser Cys Val Phe Thr Pro Lys		
65	70	75
Met Leu Asn Asp Phe Val Ser Glu Ser Ile Ile Ser Tyr Val Gly Cys		
85	90	95
Met Thr Gln Leu Phe Phe Phe Cys Phe Phe Val Asn Ser Glu Cys Tyr		
100	105	110
Val Leu Val Ser Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Asn Pro		
115	120	125
Leu Leu Tyr Met Val Thr Met Ser Pro Arg Val Cys Phe Leu Leu Met		
130	135	140
Phe Gly Ser Tyr Val Val Gly Phe Ala Gly Ala Met Ala His Thr Gly		
145	150	155
		160

Ser Met Leu Arg Leu Thr Phe Cys Asp Ser Asn Val Ile Asp His Tyr

165

170

175

Leu Cys Asp Val Leu Pro Leu Leu Gln Leu Ser Cys Thr Ser Thr His

180

185

190

Val Ser Glu Leu Val Phe Phe Ile Val Val Gly Val Ile Thr Met Leu

195

200

205

Ser Ser Ile Ser Ile Val Ile Ser Tyr Ala Leu Ile Leu Ser Asn Ile

210

215

220

Leu Cys Ile Pro Ser Ala Glu Gly Arg Ser Lys Ala Phe Ser Thr Trp

225

230

235

240

Gly Ser His Ile Ile Ala Val Ala Leu Phe Phe Gly Ser Gly Thr Phe

245

250

255

Thr Tyr Leu Thr Thr Ser Phe Pro Gly Ser Met Asn His Gly Arg Phe

260

265

270

Ala Ser Val Phe Tyr Thr Asn Val Val Pro Met Leu Asn Pro Ser Ile

275

280

285

Tyr Ser Leu Arg Asn Lys Asp Asp Lys Leu Ala Leu Gly Lys Thr Leu

290

295

300

Lys Arg Val Leu Phe

305

<210> 32

<211> 762

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (17)..(760)

<400> 32

aaatgcctaa agaaga atg acc atg gaa aat tat tct atg gca gct cag ttt 52

Met Thr Met Glu Asn Tyr Ser Met Ala Ala Gln Phe

1

5

10

gtc tta gat ggt tta aca cag caa gca gag ctc cag ctg ccc ctc ttc 100

Val Leu Asp Gly Leu Thr Gln Gln Ala Glu Leu Gln Leu Pro Leu Phe

15

20

25

ctc ctg ttc ctg gga atc tat gtg gtc aca gta gtg ggc aac ctg ggc 148

Leu Leu Phe Leu Gly Ile Tyr Val Val Thr Val Val Gly Asn Leu Gly

30

35

40

atg att ctc ctg att gca gtc agc cct cta ctt cac acc ccc atg tac 196
 Met Ile Leu Leu Ile Ala Val Ser Pro Leu Leu His Thr Pro Met Tyr
 45 50 55 60

tat ttc ctc agc agc ttg tcc ttc gtc gat ttc tgc tat tcc tct gtc 244
 Tyr Phe Leu Ser Ser Leu Ser Phe Val Asp Phe Cys Tyr Ser Ser Val
 65 70 75

att act ccc aaa atg ctg gtg aac ttc cta gga aag aag aat aca atc 292
 Ile Thr Pro Lys Met Leu Val Asn Phe Leu Gly Lys Lys Asn Thr Ile
 80 85 90

ctt tac tct gag tgc atg gtc cag ctc ttt ttc ttt gtg gtc ttt gtg 340
 Leu Tyr Ser Glu Cys Met Val Gln Leu Phe Phe Phe Val Val Phe Val
 95 100 105

gtg gct gag ggt tac ctc ctg act gcc atg gca tat gat cgc tat gtt 388
 Val Ala Glu Gly Tyr Leu Leu Thr Ala Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val
 110 115 120

gcc atc tgt agc cca ctg ctt tat aat gcg atc atg tcc tca tgg gtc 436
 Ala Ile Cys Ser Pro Leu Leu Tyr Asn Ala Ile Met Ser Ser Trp Val
 125 130 135 140

tgc tca ctg cta gtg ctg gct gcc ttc ttc ttg ggc ttt ctc tct gcc 484

Cys Ser Leu Leu Val Leu Ala Ala Phe Phe Leu Gly Phe Leu Ser Ala

145

150

155

ttg act cat aca agt gcc atg atg aaa ctg tcc ttt tgc aaa tcc cac 532

Leu Thr His Thr Ser Ala Met Met Lys Leu Ser Phe Cys Lys Ser His

160

165

170

att atc aac cat tac ttc tgt gat gtt ctt ccc ctc ctc aat ctc tcc 580

Ile Ile Asn His Tyr Phe Cys Asp Val Leu Pro Leu Leu Asn Leu Ser

175

180

185

tgc tcc aac aca cac ctc aat gag ctt cta ctt ttt atc att gcg ggg 628

Cys Ser Asn Thr His Leu Asn Glu Leu Leu Leu Phe Ile Ile Ala Gly

190

195

200

ttt aac acc ttg gtg ccc acc cta gct gtt gct gtc tcc tat gcc ttc 676

Phe Asn Thr Leu Val Pro Thr Leu Ala Val Ala Val Ser Tyr Ala Phe

205

210

215

220

atc ctc tac agc atc ctt cac atc cgc tcc tca gag ggc cgg tcc aaa 724

Ile Leu Tyr Ser Ile Leu His Ile Arg Ser Ser Glu Gly Arg Ser Lys

225

230

235

gct ttt gga aca tgc agc tct cat ctc atg gct gtg gt 762

Ala Phe Gly Thr Cys Ser Ser His Leu Met Ala Val

240

245

<210> 33

<211> 248

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Met Thr Met Glu Asn Tyr Ser Met Ala Ala Gln Phe Val Leu Asp Gly

1

5

10

15

Leu Thr Gln Gln Ala Glu Leu Gln Leu Pro Leu Phe Leu Leu Phe Leu

20

25

30

Gly Ile Tyr Val Val Thr Val Val Gly Asn Leu Gly Met Ile Leu Leu

35

40

45

Ile Ala Val Ser Pro Leu Leu His Thr Pro Met Tyr Tyr Phe Leu Ser

50

55

60

Ser Leu Ser Phe Val Asp Phe Cys Tyr Ser Ser Val Ile Thr Pro Lys

65

70

75

80

Met Leu Val Asn Phe Leu Gly Lys Lys Asn Thr Ile Leu Tyr Ser Glu

85

90

95

Cys Met Val Gln Leu Phe Phe Phe Val Val Phe Val Val Ala Glu Gly

100

105

110

Tyr Leu Leu Thr Ala Met Ala Tyr Asp Arg Tyr Val Ala Ile Cys Ser

115

120

125

Pro Leu Leu Tyr Asn Ala Ile Met Ser Ser Trp Val Cys Ser Leu Leu

130

135

140

Val Leu Ala Ala Phe Phe Leu Gly Phe Leu Ser Ala Leu Thr His Thr

145

150

155

160

Ser Ala Met Met Lys Leu Ser Phe Cys Lys Ser His Ile Ile Asn His

165

170

175

Tyr Phe Cys Asp Val Leu Pro Leu Leu Asn Leu Ser Cys Ser Asn Thr

180

185

190

His Leu Asn Glu Leu Leu Leu Phe Ile Ile Ala Gly Phe Asn Thr Leu

195

200

205

Val Pro Thr Leu Ala Val Ala Val Ser Tyr Ala Phe Ile Leu Tyr Ser

210

215

220

Ile Leu His Ile Arg Ser Ser Glu Gly Arg Ser Lys Ala Phe Gly Thr

225

230

235

240

Cys Ser Ser His Leu Met Ala Val

245

<210> 34

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 34

gaagagcagt gaggtccat gttaagg

27

<210> 35

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 35

cagcagcttg tccttcgtcg atttctgc

28

<210> 36

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 36

gctaggggtgg gcaccaaggt gttaaacc

29

<210> 37

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 37

tgcaaaagga cagtttcac atggcac

27

<210> 38

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 38

caaagaactc acccaaattc ctacagct

28

<210> 39

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 39

catggtaggc aaccttggt tgatcac

27

<210> 40

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 40

gtttattaaa tcacacataa caccatctg

29

<210> 41

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 41

cagagacaga gcaatgacat gagagctac

29

<210> 42

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 42

caaagaactc acccaaattc ctacagcc

28

<210> 43

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 43

catggtaggc aaccttggct tgatcat

27

<210> 44

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 44

gtttattaaa tcacacataa caccatctg

29

<210> 45

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 45

cagagacaga gcaatgacat gagagctac

29

<210> 46

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 46

ccagacagct cgccaagaga gaatgac

27

<210> 47

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 47

cctttataga tctctgttat tcctgtgtg

29

<210> 48

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 48

tcggttgcca gtgatatgaa gagaccc

27

<210> 49

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Artificially
synthesized primer sequence

<400> 49

ggcttttgat ctgccctctg cagaagg

27

<210> 50

<211> 450

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 50

cagcagcttg tccttcgtcg atttctgcta ttcctctgtc attactccca aaatgctggt 60

gaacttccta ggaaagaaga atacaatcct ttactctgag tgcattggtcc agctcttttt 120

ctttgtggtc tttgtggtgg ctgagggtta cctcctgact gccatggcat atgactgcta 180

tgttgccatc tgtagccac tgetttataa tgcgatcatg tctcatggg tctgctcact 240

gctagtgtg gctgccttct tcttgggctt tctctctgcc ttgactcata caagtgccat 300

gatgaaactg tccttttgca aatccacat tatcaacct tacttctgtg atgttcttcc 360

cctctcaat ctctcctgct ccaacacaca cctcaatgag cttctacttt ttatcattgc 420

ggggtttaac accttggtgc ccaccctagc

450

<210> 51

<211> 637

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 51

catggtaggc aaccttggtc tgatcactct ttccggctca aattctcacc tccacacacc 60

aatgtactat ttctcttcca atctctcctt cattgatctc tgttactcct ctgttttcac 120

tccccaaatg ctaatgaact ttgtgtcaaa aaagaatatt atctccaatg ttgggtgcat 180

gactcggctg tttttctttc tctttttcgt catctctgaa tgttacatgt tgacctcaat 240

ggcatatgat cgctatgtgg ccatctgtaa tccattgctg tataaggcca ccatgtccca 300

tcaggctctg tctatgctca cttttgctgc ttacataatg ggattggctg gagccacggc 360

ccacaccggg tgcattgtta gactcacctt ctgcagtgtc aatatcatta accattactt 420

gtgtgacata ctccccctcc tccagctttc ctgcaccagc acctatgtca acgagggtgt 480

tggtctcatt gttgtgggta ctaatatcac ggtacccagt tgtaccatcc tcatttctta 540

tgttttcatt gtcactagca ttcttcatat caaatccact caaggaagat caaaagcctt 600

cagtacttgt agctctcatg tcattgctct gtctctg 637

<210> 52

<211> 637

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 52

catggtagge aaccttggt tgatcattct ttctggtcta aattctcacc tccacacacc 60

aatgtactat ttctcttca atctctcctt cattgatctc tgttactcct ctgttttcac 120

tcccaaaatg ctaatgaact ttgtatcaaa aaagaatatt atctcctatg ttgggtgcat 180

gactcagctg tttttcttct tcttttttgt catctctgaa tgctacatat tgacctcaat 240

ggcatatgat cgctatgtgg ccatctgtaa tccattgctg tataaggcca ccatgtccca 300

tcaggctctg tctatgctca cttttgctgc ttacataatg ggattggctg gagccacggc 360

ccacaccggg tgcattgctta gactcacctt ctgcagtgt aatatcatca accattactt 420

gtgtgacata ctccccctcc tccagcttct ctgcaccagc acctatgtca acgaggtggt 480

tgttctcatt gttgtgggta ttaatatcat ggtaccacgt tgtaccatcc tcatttctta 540

tgttttcatt gtcactagca ttcttcataat caaatccact caaggaagat caaaagcctt 600

cagtacttgt agctctcatg tcattgctct gtctctg 637

<210> 53

<211> 509

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 53

cctttataga tctctgttat tcctgtgtgt ttacccccaa aatgctgaat gactttgttt 60

cagaaagtat catctcttat gtgggatgta tgactcagct atttttcttc tgtttctttg 120

tcaattctga gtgctatgtg ttggtatcaa tggcctatga tcgctatgtg gccatctgca 180

acccctgct ctacatggtc accatgtccc caagggtctg ctttctgctg atgtttgggt 240

cctatgttgt agggtttgct ggggccatgg cccacactgg aagcatgctg cgactgacct 300

tctgtgattc caacgtcatt gaccattatc tgtgtgacgt tctccccctc ttgcagctct 360

cctgcaccag cacccatgtc agtgagctgg tatttttcat tgttggtgga gtaatcacca 420

tgctatccag cataagcadc gtcattctctt acgttttgat actctccaac atcctctgta 480

ttccttctgc agagggcaga tccaaagcc

509

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/05578

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C07K14/705, C12N15/12, C12N5/10, C12P21/02, C12P21/08,
C07K 16/28, G01N 33/68, G01N 33/53
/(C12N 15/12, C12R 1:91), (C12N 5/10, C12R 1:91)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C07K14/705, C12N15/12, C12N5/10, C12P21/02, C12P21/08,
C07K16/28, G01N33/68, G01N 33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DBJ/GeneSeq,
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Gene, Vol. 178, No. 1/2, pages 1-5, (1996)	1,3-6
Y	Mary Beth Thomas et al., "Chemoreceptors expressed in taste, olfactory and male reproductive tissues".	1-11
X	Eur. J. Biochem., Vol. 225, No. 3, pages 1157-1168, (1994)	1,3-7,10,11
Y	Uri GAT et al., "Olfactory receptor proteins expression, characterization and partial purification".	1-11
Y	JP, 10-210993, A (SMITHKLINE BEECHAM CORPRATION), 11 August, 1998 (11.08.98) & EP, 855443, A2 & CA, 2220851, A	8,9
Y	JP, 9-176048, A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 08 July, 1997 (08.07.97) (Family: none)	8,9
X	Genome Research, Vol. 7, No. 4, pages 330-338, (1997) Cecilie Boysen et al., "Analysis of the 1.1-Mb human α /8 T-cell receptor locus with bacterial artificial chromosome clones"	12

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not
considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing
date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is
cited to establish the publication date of another citation or other
special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other
means
"P" document published prior to the international filing date but later
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or
priority date and not in conflict with the application but cited to
understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered novel or cannot be considered to involve an inventive
step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered to involve an inventive step when the document is
combined with one or more other such documents, such
combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
04 January, 2000 (04.01.00)

Date of mailing of the international search report
18 January, 2000 (18.01.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07K 14/705, C12N 15/12, C12N 5/10, C12P 21/02, C12P 21/08, C07K 16/28, G01N 33/68, G01N 33/53
 //(C12N 15/12, C12R 1:91), (C12N 5/10, C12R 1:91)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07K 14/705, C12N 15/12, C12N 5/10, C12P 21/02, C12P 21/08, C07K 16/28, G01N 33/68, G01N 33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
 WPI(DIALOG), BIOSIS(DIALOG)

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	Gene, Vol. 178, No. 1/2, p. 1-5, (1996) Mary Beth Thomas et al., "Chemoreceptors expressed in taste, olfactory and male reproductive tissues".	$\frac{1, 3-6}{1-11}$
X Y	Eur. J. Biochem., Vol. 225, No. 3, p. 1157-1168, (1994) Uri GAT et al., "Olfactory receptor proteins expressopn, characterization and partial purification".	$\frac{1, 3-7, 10, 11}{1-11}$
Y	JP, 10-210993, A (SMITHKLINE BEECHAM CORPRATION) 11.8月.1998 (11.08.98) & EP, 855443, A2 & CA, 2220851, A	8, 9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.01.00

国際調査報告の発送日

18.01.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齋藤 真由美



4B

8931

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 9-176048, A (武田薬品工業株式会社) 8.7月.1997 (08.07.97) ファミリーなし	8, 9
X	Genome Research, Vol.7, No.4, p.330-338, (1997) Cecilie Boysen et al., "Analysis of the 1.1-Mb human $\alpha/8$ T-cell receptor locus with bacterial artificial chromosome clones".	1 2